

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202391277** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2023.09.29

(51) Int. Cl. *A61K 31/4025* (2006.01)
A61K 31/41 (2006.01)
A61K 31/7135 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.08.20

(54) **КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТОК
ПОСРЕДСТВОМ ИНДУКЦИИ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА**

(31) **62/720,257**

(32) **2018.08.21**

(33) **US**

(62) **202190580; 2019.08.20**

(71) Заявитель:
**БОРД ОФ РИДЖЕНТС, ДЗЕ
ЮНИВЕРСИТИ ОФ ТЕХАС
СИСТЕМЗ (US)**

(72) Изобретатель:

**Сарбассов Дос Д., У Синган, Эллис
Ли, Бхаттачария Раджат (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В изобретении предусматриваются способы и композиции для лечения злокачественных опухолей посредством D-VC и триоксида мышьяка. В некоторых аспектах злокачественные опухоли для лечения согласно вариантам осуществления включают злокачественные опухоли с повышенной экспрессией GLUT1 и/или имеют мутацию KRAS.

202391277
A1

202391277

A1

КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТОК ПОСРЕДСТВОМ ИНДУКЦИИ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА

[0001] Настоящей заявке испрашивается приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/720257, поданной 21 августа 2018 года, полное содержание которой включено в настоящее описание в качестве ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОМУ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

1. Область изобретения

[0002] Настоящее изобретение относится, главным образом, к области онкологии. Более конкретно, оно относится к лечению злокачественной опухоли посредством индукции цитотоксического оксидативного стресса.

2. Описание уровня техники

[0003] Многие метастазирующие злокачественные опухоли в настоящее время неизлечимы, и 5-летняя выживаемость все еще является очень низкой, несмотря на десятилетия исследований и постоянно растущее финансирование. Например, мутации KRAS являются частыми при раке поджелудочной железы, раке ободочной и прямой кишки и раке легкого, и в настоящее время в настоящее время не существует эффективного вмешательства в случае онкогена KRAS. Одним из возможных подходов для лечения злокачественных опухолей, таких как злокачественные опухоли с мутантным KRAS, является индукция оксидативного стресса, который может селективно уничтожить злокачественные клетки относительно окружающей нормальной ткани. Однако не сегодняшний день остается потребность в способах и композициях, которые способны индуцировать достаточный оксидативный стресс, который является селективным в отношении злокачественных клеток, для обеспечения терапевтической эффективности.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] В первом варианте осуществления предусматривается способ лечения злокачественной опухоли у индивидуума, включающий воздействие на злокачественные клетки оксидативного стресса и введение индивидууму эффективного количества D-VC или его фармацевтически приемлемых солей. В некоторых аспектах воздействие на злокачественные клетки оксидативного стресса включает введение индивидууму эффективного количества окислителя. Например, в некоторых аспектах окислитель выбран из группы, состоящей из (но не ограничиваясь ими) триоксида мышьяка (ATO), метилового эфира 2-циано-3,12-диоксоолеана-1,9-диен-28-овой кислоты (CDDO-Me), куркумина, бетулиновой кислоты, синтетического нестероидного противовоспалительного лекарственного средства (NSAID), GT-094, целастрола, толперизона и ланперизона (производное толперизона).

[0005] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам лечения злокачественной опухоли, включающим введение индивидууму, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы триоксида мышьяка (ATO) и D-

витамина С (D-VC, также известного как D-аскорбиновая кислота) или их фармацевтически приемлемых солей. В некоторых аспектах злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль с мутантным KRAS. В некоторых аспектах злокачественная опухоль протестирована, и определено, что она имеет мутацию KRAS. В некоторых аспектах злокачественная опухоль демонстрирует повышенную экспрессию GLUT1. В некоторых аспектах злокачественная опухоль протестирована, и определено, что она демонстрирует повышенную экспрессию GLUT1 или демонстрирует высокое поглощение глюкозы. В некоторых аспектах злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль с мутантным KRAS и демонстрирует повышенную экспрессию GLUT1.

[0006] В некоторых аспектах оксидативный стресс применяют отдельно от введения D-VC. В следующих аспектах оксидативный стресс применяют в течение 24 часов от введения D-VC. В следующих аспектах оксидативный стресс применяют в пределах 8, 6, 4 или 2 часов от введения D-VC. В следующих аспектах оксидативный стресс применяют в пределах 1 часа от введения D-VC. В некоторых аспектах оксидативный стресс применяют по существу одновременно с введением D-VC. В других аспектах D-VC вводят после применения оксидативного стресса. В следующих аспектах D-VC вводят приблизительно через 2 часа после применения оксидативного стресса.

[0007] В некоторых аспектах окислитель, например АТО, и D-VC вводят в отдельных композициях. В следующих аспектах окислитель, такой как АТО, и D-VC вводят в пределах 24 часов друг от друга. В следующих аспектах окислитель (например, АТО) и D-VC вводят в пределах 8, 6, 4 или 2 часов друг от друга. В следующих аспектах окислитель (например, АТО) и D-VC вводят в пределах 1 часа друг от друга. В некоторых аспектах АТО и D-VC вводят совместно. В других аспектах D-VC вводят после окислителя (например, АТО). В следующих аспектах D-VC вводят приблизительно через 2 часа после введения окислителя (например, АТО).

[0008] В некоторых аспектах индивидуум является голодным. В некоторых аспектах индивидуум голодает в течение по меньшей мере 1 часа перед введением D-VC. В других аспектах индивидуум голодает в течение по меньшей мере 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 или 24 часов перед введением D-VC. В некоторых аспектах способы, кроме того, включают тестирование уровня глюкозы в крови индивидуума перед введением D-VC. В некоторых аспектах окислитель (например, АТО) и D-VC составляют в одной композиции. В некоторых аспектах окислитель (например, АТО) и D-VC вводят по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 раз. В некоторых аспектах окислитель (например, АТО) и D-VC вводят каждые сутки в течение одной недели, двух недель, одного месяца, двух месяцев или трех месяцев. В некоторых аспектах окислитель представляет собой АТО, и его вводят в дозе от приблизительно 10 мкг/кг до приблизительно 10 мг/кг. В следующих аспектах АТО вводят в дозе от приблизительно 100 мкг/кг до приблизительно 50 мг/кг. В следующих аспектах АТО вводят в дозе от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг. Например, АТО можно вводить в дозе от по меньшей мере 0,1 мг/кг до

приблизительно 0,5, 1, 2, 3 или 4 мг/кг. В следующих аспектах АТО вводят в дозе приблизительно 0,2 мг/кг.

[0009] В некоторых аспектах D-VC вводят в дозе от приблизительно 5 мг/кг до приблизительно 30 г/кг. В следующих аспектах D-VC вводят в дозе от приблизительно 15 мг/кг до приблизительно 20 г/кг. В следующих аспектах D-VC вводят в дозе от приблизительно 150 мг/кг до приблизительно 15 г/кг. В следующих аспектах D-VC вводят в дозе приблизительно 1,5 г/кг. В некоторых аспектах индивидуум является голодным при введении окислителя (например, АТО) и D-VC. В некоторых аспектах индивидуум голодает в течение по меньшей мере 2 часов перед введением окислителя (например, АТО) и D-VC. В некоторых аспектах индивидуум продолжает голодать в течение по меньшей мере 2 часов после введения окислителя (например, АТО) и D-VC.

[0010] В некоторых аспектах злокачественная опухоль представляет собой лейкоз, рак ободочной и прямой кишки, рак поджелудочной железы или рак легкого. В следующих аспектах лейкоз представляет собой острый промиелоцитарный лейкоз (APL). В некоторых аспектах злокачественная опухоль представляет собой рак поджелудочной железы, рак ободочной и прямой кишки или множественную миелому. В некоторых аспектах злокачественная опухоль имеет мутацию KRAS и/или демонстрирует повышенную экспрессию GLUT1. В некоторых аспектах АТО и/или D-VC вводят внутривенно, внутривентриально, интратекально, внутрь опухоли, внутримышечно, эндоскопическим путем, внутрь очага повреждения, подкожно, регионарным путем или посредством прямой инъекции или перфузии. В других аспектах АТО и/или D-VC вводят не парентеральным путем. В следующих аспектах АТО и/или D-VC вводят местным, эпидермальным или мукозальным путем. В некоторых аспектах АТО и D-VC вводят интраназально, перорально, вагинальным путем, ректально, сублингвально или местным путем. В некоторых аспектах АТО и D-VC вводят одним и тем же путем введения. В некоторых аспектах способы дополнительно включают лечение посредством по меньшей мере одной другой терапии против злокачественной опухоли. В следующих аспектах по меньшей мере одна другая терапия против злокачественной опухоли выбрана из резекции опухоли, химиотерапии, иммунотерапии и лучевой терапии. В следующих аспектах по меньшей мере одна другая терапия против злокачественной опухоли включает окислитель. В конкретных аспектах окислитель выбран из группы, состоящей из метилового эфира 2-циано-3,12-диоксоолеана-1,9-диен-28-овой кислоты (CDDO-Me), куркумина, бетулиновой кислоты, синтетического нестероидного противовоспалительного лекарственного средства (NSAID), GT-094, целастрола, толперизона и ланперизона.

[0011] В следующих вариантах осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим окислитель (например, триоксид мышьяка (АТО), метиловый эфир 2-циано-3,12-диоксоолеана-1,9-диен-28-овой кислоты (CDDO-Me), куркумин, бетулиновая кислота, синтетическое нестероидное противовоспалительное лекарственное средство (NSAID), GT-094, целастрол, толперизон и ланперизон (производное толперизона)) и D-VC или его фармацевтически приемлемые соли,

составленные в фармацевтически приемлемом эксципиенте. В следующих вариантах осуществления изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим триоксид мышьяка (ATO) и D-VC или его фармацевтически приемлемые соли, составленные в фармацевтически приемлемом эксципиенте.

[0012] В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам идентификации индивидуума для лечения окислителем (например, ATO) и D-VC, включающим тестирование образца от индивидуума для определения того, имеет ли индивидуум злокачественную опухоль, которая содержит мутацию KRAS и/или демонстрирует повышенную экспрессию GLUT1, где, если злокачественная опухоль содержит мутацию KRAS и/или демонстрирует повышенную экспрессию GLUT1 или высокое всасывание глюкозы, тогда индивидуум является кандидатом для терапии посредством ATO и D-VC. В некоторых аспектах способы, кроме того, включают проведение терапии ATO и D-VC у идентифицированного индивидуума.

[0013] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам лечения злокачественной опухоли у индивидуума, включающим воздействие на злокачественные клетки оксидативного стресса посредством введения эффективного количества триоксида мышьяка (ATO) или его фармацевтически приемлемых солей и эффективного количества второго окислителя индивидууму. В некоторых аспектах второй окислитель выбран из группы, состоящей из метилового сложного эфира 2-циано-3,12-диоксоолеана-1,9-диен-28-овой кислоты (CDDO-Me), куркумина, бетулиновой кислоты, синтетического нестероидного противовоспалительного лекарственного средства (NSAID), GT-094, целастрола, толперизона и ланперизона. В некоторых аспектах злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль с мутантным KRAS. В некоторых аспектах злокачественная опухоль протестирована, и определено, что она имеет мутацию KRAS. В некоторых аспектах злокачественная опухоль имеет повышенную экспрессию GLUT1 или высокое поглощение глюкозы. В некоторых аспектах злокачественная опухоль протестирована, и определено, что она имеет повышенную опухоль экспрессии GLUT1. В некоторых аспектах злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль с мутантным KRAS и демонстрирует повышенную экспрессию GLUT1. В некоторых аспектах второй окислитель вводят в пределах 24 часов от введения ATO. В некоторых аспектах второй окислитель вводят в пределах 8, 6, 4 или 2 часов от введения ATO. В некоторых аспектах второй окислитель вводят в пределах 1 часа от введения ATO. В некоторых аспектах ATO вводят после введения второго окислителя. В следующих аспектах ATO вводят приблизительно через 2 часа после второго окислителя. В некоторых аспектах индивидуум является голодным. В некоторых аспектах индивидуум является голодным в течение по меньшей мере 1 часа перед введением ATO. В следующих аспектах индивидуум является голодным в течение по меньшей мере 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 или 24 часов перед введением ATO. В некоторых аспектах способы, кроме того, включают тестирование уровня глюкозы в крови индивидуума перед введением ATO.

[0014] Как используют в рамках изобретения, "по существу свободный" в

отношении определенного компонента, используют в настоящем описании для указания на то, что никакое количество указанного компонента не составлено намеренно в композицию и/или присутствует только в качестве примеси или в следовых количествах. Общее количество указанного компонента в результате ненамеренной контаминации композиции предпочтительно составляет менее 0,01%. Наиболее предпочтительной является композиция, в которой не может быть обнаружено никакое количество указанного компонента с использованием стандартных способов анализа.

[0015] Как используют в рамках изобретения в описании и формуле изобретения, форма единственного числа означает один или несколько. Как используют в рамках изобретения в описании и формуле изобретения, при использовании со словом "содержащий", форма единственного числа может означать один или более одного. Как используют в рамках изобретения в описании и формуле изобретения, "другой" или "следующий" может означать по меньшей мере второй или более.

[0016] Как используют в рамках изобретения в описании и формуле изобретения, термин "приблизительно" используют для указания на то, что величина включает присущее ей варьирование в результате погрешности устройства, способа, используемого для определения величины, или варьирования, которое существует среди исследуемых индивидуумов.

[0017] Другие задачи, признаки и преимущества настоящего изобретению станут очевидными из приведенного ниже подробного описания. Однако следует понимать, что подробное описание и конкретные примеры, хотя и указывают на определенные варианты осуществления изобретения, приведены только в качестве иллюстрации, поскольку различные изменения и модификации в пределах сущности и объема изобретения станут очевидными специалистам в данной области из этого подробного описания.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0018] Приведенные ниже чертежи составляют часть настоящего описания и включены для дальнейшей демонстрации определенных аспектов настоящего изобретения. Изобретение может стать более понятным с помощью одного или нескольких из этих чертежей в комбинации с подробным описанием конкретных вариантов осуществления, приведенных в настоящем описании.

[0019] **Фиг.1: Комбинированные способы лечения витамин С/АТО и D-витамин С/АТО являются эффективными в отношении индукции цитотоксичности в злокачественных клетках с мутантным KRAS.** Клетки рака ободочной и прямой кишки HCT116 обрабатывали указанным растворами в течение 72 часов: контроль (фосфатно-солевой буфер, PBS, добавленный к культуральной среде в разведении 1:1000), 1 мМ VC (витамин С использовали в концентрации 1 мМ), 1 мМ D-VC (D-витамин С использовали в концентрации 1 мМ), 5 мкМ АТО (триоксид мышьяка использовали в концентрации 5 мкМ) и комбинация 1 мМ VC с 5 мкМ АТО или 1 мМ D-VC с 5 мкМ АТО. Изображения клеток представлены с обозначениями, указывающими на обработку клеток.

[0020] **Фиг.2: Проточно-цитометрический анализ апоптоза злокачественной**

опухоли НСТ116 после обработки лекарственным средством. Клетки НСТ116 обрабатывали лекарственными средствами, как описано на фиг.1, и после обработки клетки окрашивали аннексином-V FITC и сортировали.

[0021] Фиг.3: Графическое представление апоптоза по данным проточной цитометрии. Данные проточной цитометрии в отношении апоптоза, показанные на фиг.2, представлены в качестве графика.

[0022] Фиг.4: Детекция активных форм кислорода (ROS) посредством проточной цитометрии. Клетки НСТ116 обрабатывали указанными соединениями, как описано на фиг.1, и анализировали посредством проточной цитометрии для обнаружения присутствия активных форм кислорода с помощью реагента Mito Sox Red. Mito Sox Red представляет собой реагент от Invitrogen™, каталожный номер #LSM360084.

[0023] Фиг.5: Графическое представление присутствия активных форм кислорода (ROS), определенное посредством проточной цитометрии. Данные детекции ROS, представленные на фиг.4, приведены в качестве графика.

[0024] Фиг.6: Ксенотрансплантированные опухоли НСТ116 после 9 инъекций. Изображены ксенотрансплантированные опухоли каждой из 5 мышей на условия введения. Мышам внутрибрюшинно инъецировали PBS (контроль), витамин С (1,5 г/кг), D-витамин С (1,5 г/кг), АТО 7 мг/кг), АТО (7 мг/кг)+витамин С (1,5 г/кг) или АТО (7 мг/кг)+D-витамин С (1,5 г/кг). Мышам проводили инъекцию каждые сутки в течение 6 суток и после 6-й инъекции мышей оставляли в покое на одни сутки. Рубцевание наблюдали в нескольких опухолях, включая все из опухолей после введения D-VC+АТО.

[0025] Фиг.7: Ксенотрансплантированные опухоли НСТ116 после 12 инъекций. Изображены ксенотрансплантированные опухоли каждой из 5 мышей на условия введения, как описано на фиг.6, после 12 инъекций (лечение в течение 2 недель). Рубцевание наблюдали в нескольких опухолях, включая все из опухолей после введения D-VC+АТО.

[0026] Фиг.8: Ксенотрансплантированные опухоли НСТ116 после 15-й (конечной) инъекции после резекции. Представлены вырезанные опухоли после 15 инъекций, описанных на фиг.6. Рубцевание наблюдали в нескольких опухолях, включая все из опухолей после введения D-VC+АТО.

[0027] Фиг.9: Масса опухолей после 15 инъекций. Значения p для одностороннего статистического анализа ANOVA показывают статистически значимое отличие в массе опухоли между группами мышей, представленными на фиг.8, которым вводили PBS против VC+АТО, PBS против D-VC+АТО, и VC+АТО против D-VC+АТО.

ОПИСАНИЕ ИЛЛЮСТРАТИВНЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0028] Витамин С в его природной форме, также обозначаемый в настоящем описании как VC, L-VC или посредством его химического названия L-аскорбиновая кислота, может индуцировать оксидативный стресс в определенных злокачественных клетках, таких как злокачественные опухоли с мутантным KRAS. Исследования, описанные в настоящем описании, демонстрируют, что D-энантиомер витамина С (D-VC), отдельно или в комбинации с окислителем, таким как триоксид мышьяка, может индуцировать

выраженный оксидативный стресс в злокачественных клетках, таких как злокачественные клетки с мутантным KRAS. В частности, исследования показывают, что оптический изомер витамина С, D-витамин С (также обозначаемый в настоящем описании как D-VC или D-аскорбиновая кислота), является в высокой степени эффективным в отношении индукции оксидативного стресса злокачественных клеток с мутантным KRAS. Для усиления окислительного действия D-VC на клетки с мутантным KRAS D-VC вводили с другим окисляющим соединением, триоксидом мышьяка (ATO). Исследования, описанные в настоящем описании, демонстрируют, что комбинация D-VC/ATO является в высокой степени цитотоксической для злокачественных клеток с мутантным KRAS, происходящих как из человека, так и из мыши. Кроме того, данные, приведенные в настоящем описании, указывают на то, что применение комбинации D-VC/ATO является значительно более эффективным в отношении подавления роста опухоли с мутантным KRAS в модели с ксенотрансплантатом на мышах, чем комбинация витамина С и ATO. Поскольку мутации KRAS являются частыми при раке поджелудочной железы, ободочной и прямой кишки и легкого, и в настоящее время не существует эффективного вмешательства для онкогена KRAS, настоящее изобретение относится к мощной цитотоксической комбинации, которая специфически нацелена на злокачественные клетки с мутантным KRAS. Кроме того, эту комбинацию D-VC и ATO также можно использовать для любого типа злокачественной опухоли, ассоциированного с высокой экспрессией GLUT1.

[0029] Таким образом, в определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к композициям и способам для лечения злокачественной опухоли триоксидом мышьяка и D-VC.

I. Способы лечения

[0030] В одном аспекте в рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения злокачественной опухоли у индивидуума, включающие введение индивидууму терапевтически эффективного количества триоксида мышьяка и D-VC.

[0031] Опухоли, для которых являются пригодными настоящие способы лечения, включают любой тип злокачественных клеток, такой как злокачественные клетки, встречающиеся в солидной опухоли или гематологической опухоли. В частности, злокачественная опухоль может представлять собой злокачественную опухоль, сверхэкспрессирующую переносчик GLUT1, такую как злокачественная опухоль с мутантным KRAS или злокачественные опухоли, которые демонстрируют высокое поглощение глюкозы.

[0032] Злокачественные опухоли, от которых можно лечить с использованием способов, описанных в настоящем описании, включают, но не ограничиваются ими, рак легкого (включая мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого и плоскоклеточную карциному легкого), злокачественную опухоль брюшины, гастриальный рак или рак желудка (включая желудочно-кишечный рак и желудочно-кишечный стромальный рак), рак поджелудочной железы, рак шейки матки, рак яичника, рак печени, рак мочевого пузыря, рак молочной железы, рак толстого

кишечника, рак ободочной и прямой кишки, карциному эндометрия или матки, карциному слюнной железы, рак почки или ренальный рак, рак предстательной железы, рак женских наружных половых органов, рак щитовидной железы, различные типы рака головы и шеи, и меланому. Иллюстративные злокачественные опухоли, от которых можно лечить с использованием способов по настоящему изобретению, могут сверхэкспрессировать GLUT1, как например, злокачественные опухоли с мутантным KRAS.

[0033] Злокачественная опухоль, в частности, может относиться к следующему гистологическому типу, хотя и не ограничивается ими: новообразование, злокачественное; карцинома; карцинома, недифференцированная; гигантоклеточная и веретенноклеточная карцинома; мелкоклеточная карцинома; папиллярная карцинома; плоскоклеточная карцинома; лимфоэпителиальная карцинома; базально-клеточная карцинома; пиломатриксная карцинома; переходно-клеточная карцинома; папиллярная переходноклеточная карцинома; аденокарцинома; гастринома злокачественная; холангиокарцинома; печеночно-клеточная карцинома; комбинированная печеночно-клеточная карцинома и холангиокарцинома; трабекулярная аденокарцинома; аденокистозная карцинома; аденокарцинома в аденоматозном полипе; аденокарцинома, семейный коли-полипоз; солидная карцинома; карциноидная опухоль, злокачественная; бронхиоло-альвеолярная аденокарцинома; папиллярная аденокарцинома; хромофобная карцинома; ацидофильная карцинома; оксифильная аденокарцинома; базофильная карцинома; светлоклеточная аденокарцинома; зернистоклеточная карцинома; фолликулярная аденокарцинома; папиллярная и фолликулярная аденокарцинома; неинкапсулирующая склерозирующая карцинома; карцинома коры надпочечников; эндометриоидная карцинома; карцинома из придатков кожи; апокринная аденокарцинома; сальная аденокарцинома; церуминозная аденокарцинома; мукоэпидермоидная карцинома; цистаденокарцинома; папиллярная цистаденокарцинома; папиллярная серозная цистаденокарцинома; муцинозная цистаденокарцинома; муцинозная аденокарцинома; перстневидно-клеточная карцинома; инфильтрирующая протоковая карцинома; медуллярная карцинома; лобулярная карцинома; воспалительная карцинома; болезнь Педжета, молочной железы; ацинозно-клеточная карцинома; аденосквамозная карцинома; аденокарцинома со сквамозной метаплазией; тимома, злокачественная; стромальная опухоль яичника, злокачественная; текома, злокачественная; гранулезоклеточная опухоль, злокачественная; андробластома, злокачественная; карцинома клеток Сертоли; опухоль из клеток Лейдига, злокачественная; опухоль из жировых клеток, злокачественная; параганглиома, злокачественная; экстрамаммарная параганглиома, злокачественная; феохромоцитома; гломангиосаркома; злокачественная меланома; амеланотическая меланома; поверхностная распространяющаяся меланома; меланома типа злокачественного лентиго; акральные лентигинозные меланомы; узелковые меланомы; злокачественная меланома в гигантском пигментированном невусе; эпителиоидно-клеточная меланома; синий невус, злокачественный; саркома; фибросаркома; фиброзная гистиоцитома, злокачественная; миксосаркома; липосаркома; лейомиосаркома; рабдомиосаркома; эмбриональная

рабдомиосаркома; альвеолярная рабдомиосаркома; стромальная саркома; смешанная опухоль, злокачественная опухоль; мюллерова смешанная опухоль; нефробластома; гепатобластома; карциносаркома; мезенхимомы, злокачественная; опухоль Бреннера, злокачественная; филлоидная опухоль, злокачественная; синовиальная саркома; мезотелиома, злокачественная; дисгерминома; эмбриональная карцинома; тератома, злокачественная; струма яичника, злокачественная; хориокарцинома; мезонефрома, злокачественная; гемангиосаркома; гемангиоэндотелиома, злокачественная; саркома Капоши; гемангиоперицитомы, злокачественная; лимфангиосаркома; остеосаркома; юстакортикальная остеосаркома; хондросаркома; хондробластома, злокачественная; мезенхимальная хондросаркома; гиганто-клеточная опухоль кости; саркома Юинга; одонтогенная опухоль, злокачественная; амелобластическая одонтогенная саркома; амелобластома, злокачественная; амелобластическая фибросаркома; пинеалома, злокачественная; хордома; глиома, злокачественная; эпендимомы; астроцитомы; протоплазматическая астроцитомы; фибриллярная астроцитомы; астробластома; глиобластома; олигодендроглиомы; олигодендробластома; примитивная нейроэктодермальная опухоль; мозжечковая саркома; ганглионейробластома; нейробластома; ретинобластома; ольфакторная нейрогенная опухоль; менингиома, злокачественная; нейрофибросаркома; неврилеммома, злокачественная; зернисто-клеточная опухоль, злокачественная; злокачественная лимфома; болезнь Ходжкина; лимфома Ходжкина; парагранулема; злокачественная лимфома, мелколимфоцитарная; злокачественная лимфома, крупноклеточная, диффузная; злокачественная лимфома, фолликулярная; фунгоидный микоз; другие уточненные неходжскинские лимфомы; В-клеточная лимфома; низкоклеточная/фолликулярная неходжскинская лимфома (NHL); мелколимфоцитарная (SL) NHL; промежуточно-злокачественная/фолликулярная NHL; промежуточно-злокачественная диффузная NHL; высокозлокачественная иммунобластная NHL; высокозлокачественная лимфобластная NHL; высокозлокачественная мелкоклеточная NHL с не расщепленными клетками; NHL с массивным поражением; лимфома из клеток мантийной зоны; СПИД-ассоциированная лимфома; макроглобулинемия Вальденстрема; злокачественный гистиоцитоз; множественная миелома; саркома из тучных клеток; иммунопролиферативное заболевание тонкого кишечника; лейкоз; лимфоидный лейкоз; плазматочный лейкоз; эритролейкоз; лейкоз из клеток лимфосаркомы; миелоидный лейкоз; базофильный лейкоз; эозинофильный лейкоз; моноцитарный лейкоз; лейкоз из тучных клеток; мегакариобластный лейкоз; миелоидная саркома; волосатоклеточный лейкоз; хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL); острый лимфобластный лейкоз (ALL); острый миелоидный лейкоз (AML) и хронический миелоидный лейкоз.

[0034] В определенных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество АТО и D-VC вводят индивидууму внутривенно, внутрь опухоли или внутрибрюшинно. Соответствующая дозировка АТО и D-VC может быть определена на основе типа злокачественной опухоли, подлежащего лечению, тяжести и течения

заболевания, клинического состояния индивидуума и мнения лечащего врача.

А. Комбинированные способы терапии

[0035] В определенных вариантах осуществления способы, описанные в настоящем описании, кроме того, включают стадию введения индивидууму по меньшей мере одного дополнительного терапевтического средства. Все дополнительные терапевтические средства, описанные в настоящем описании, вводят индивидууму в соответствии с Надлежащей клинической практикой для каждой конкретной композиции или терапии, учитывая какую-либо потенциальную токсичность, вероятные побочные эффекты и любые другие значимые факторы.

[0036] В определенных вариантах осуществления дополнительная терапия может представлять собой иммунотерапию, лучевую терапию, хирургическую операцию (например, хирургическая резекция опухоли), химиотерапию, трансплантацию костного мозга или комбинацию вышеуказанных. Дополнительная терапия может представлять собой направленную терапию. В определенных вариантах осуществления дополнительную терапию проводят до основного лечения (т.е. в качестве адьювантной терапии). В определенных вариантах осуществления дополнительную терапию проводят после основного лечения (т.е., в качестве неоадьювантной терапии).

[0037] В определенных вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство включает лечение посредством лучевой терапии. В определенных вариантах осуществления лучевая терапия выбрана из группы, состоящей из гамма-лучей (γ -лучи), рентгеновских лучей, микроволн, облучения протонным пучком, ультрафиолетового излучения и направленной доставки радиоизотопов в опухоль. В определенных вариантах осуществления лучевая терапия включает лечение рентгеновскими лучами. В определенных вариантах осуществления рентгеновские лучи применяют в суточных дозах от 50 до 200 рентген на протяжении периода от трех до четырех недель. В определенных вариантах осуществления рентгеновские лучи применяют в однократной дозе от 2000 до 6000 рентген. В определенных вариантах осуществления лучевая терапия включает направленную доставку радиоизотопов в опухоль. Диапазоны дозировок для радиоизотопов широко варьируются в зависимости от времени полужизни изотопа, силы и типа испускаемой радиации, и степени поглощения опухолевыми клетками, однако специалист в данной области способен определить соответствующую терапевтически эффективную дозу.

[0038] В определенных вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство включает введение средств для лечения побочных эффектов, ассоциированных с основным лечением (например, тошнота, кахексия и т.п.). В определенных вариантах осуществления дополнительная терапия включает иммунотерапию. В определенных вариантах осуществления дополнительная терапия включает лучевую терапию. В некоторых вариантах осуществления лучевая терапия включает гамма-излучение. В определенных вариантах осуществления дополнительная терапия включает хирургическую операцию. В определенных вариантах осуществления дополнительная терапия включает

комбинацию лучевой терапии и хирургической операции. В определенных вариантах осуществления дополнительная терапия включает лечение классом химиотерапевтических средств, выбранным из группы, состоящей из алкилирующих средств, антрациклинов, разрушающих цитоскелет средств, эпотилонов, ингибиторов деацетилазы гистонов, ингибиторов топоизомеразы I, ингибиторов топоизомеразы II, ингибиторов киназ, нуклеотидных аналогов и аналогов нуклеотидных предшественников, пептидных антибиотиков, соединений на основе платины, ретиноидов, алкалоидов барвинка и их производных.

[0039] Дополнительные способы терапии, предусматриваемые в рамках настоящего изобретения, можно проводить до, после или одновременно с введением композиций, описанных в настоящем описании. В определенных вариантах осуществления дополнительную терапию проводят до введения композиций, описанных в настоящем описании. В определенных вариантах осуществления дополнительную терапию проводят после введения композиций, описанных в настоящем описании. В определенных вариантах осуществления дополнительную терапию проводят с одним или несколькими интервалами до или после введения композиций, описанных в настоящем описании. Определение соответствующего интервала для проведения дополнительной терапии, так чтобы для индивидуума, подвергаемого лечению, была полезной комбинированная терапия, входит в пределы уровня среднего специалиста в данной области.

[0040] В определенных вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой терапию ингибитором иммунной точки контроля. Ингибитор иммунной точки контроля ингибирует белок иммунной точки контроля, выбранный из группы, состоящей из белка каскада запрограммированной клеточной смерти 1 (PD-1/CD279) и его лигандов (PD-L1/CD274 и PD-L2/CD273), ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами антигена 4 (CTLA-4/CD152), гена активации лимфоцитов 3 (LAG-3/CD223), В- и Т-лимфоцитарного аттенуатора (BTLA), доменов (TIGIT) Т-клеточного иммунорецептора с Ig и иммунорецепторного ингибиторного мотива на основе тирозина (ITIM), белка 3 с доменом Т-клеточного иммуноглобулина и муцина (TIM-3/HAVER2), иммуноглобулин-подобного рецептора киллерных клеток (KIR/CD158), супрессора активации Т-клеток с V-доменом иммуноглобулина (VISTA), и рецептора аденозина A2a (A2aR).

[0041] Ингибиторы иммунной точки контроля могут представлять собой лекарственные средства, такие как низкомолекулярные средства, рекомбинантные формы лигандов или рецепторов, или, в частности, представляют собой антитела, такие как антитела человека. Можно использовать известные ингибиторы белков иммунной точки контроля или их аналогов, в частности, химеризованные, гуманизированные или человеческие формы антител. Как будет известно специалисту в данной области, для определенных антител, упоминаемых в настоящем описании, могут использоваться альтернативные и/или эквивалентные названия. Такие альтернативные и/или эквивалентные названия являются взаимозаменяемыми в контексте настоящего

изобретения. Например, известно, что ламбролизумаб также известен под альтернативными и эквивалентными названиями МК-3475 и пембролизумаб.

[0042] В определенных вариантах осуществления ингибитор иммунной точки контроля представляет собой связывающий PD-1 антагонист. В определенных вариантах осуществления связывающий PD-1 антагонист представляет собой антитело против PD-1. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 выбрано из группы, состоящей из ниволумаба, пембролизумаба и СТ-011. В определенных вариантах осуществления связывающий PD-1 антагонист представляет собой иммуноадгезин (например, иммуноадгезин, содержащий внеклеточную или связывающую PD-1 часть PDL1 или PDL2, слитую с константной областью иммуноглобулина (например, Fc-область последовательности иммуноглобулина)).

[0043] В определенных вариантах осуществления ингибитор иммунной точки контроля представляет собой связывающий СТЛА-4 антагонист. В определенных вариантах осуществления связывающий СТЛА-4 антагонист представляет собой антитело против СТЛА-4. В определенных вариантах осуществления антитело против СТЛА-4 выбрано из группы, состоящей из ипилимумаба и тремелиумаба.

В. Фармацевтические композиции

[0044] В другом аспекте в рамках настоящего изобретения предусматриваются фармацевтические композиции и составы, содержащие триоксид мышьяка (ATO), D-VC и фармацевтически приемлемый носитель.

[0045] Фармацевтические композиции и составы, как описано в настоящем описании, можно получать путем смешения активных ингредиентов (ATO и D-VC), имеющих желаемую степень чистоты, с одним или несколькими необязательными фармацевтически приемлемыми носителями (Remington's Pharmaceutical Sciences 22nd edition, 2012), в форме водных растворов, таких как нормальный солевой раствор (например, 0,9%) и сывороточный альбумин человека (например, 10%). Фармацевтически приемлемые носители, как правило, являются нетоксичными в используемых дозировках и концентрациях и включают, но не ограничиваются ими: буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония; хлорид гексаметэтония; хлорид бензалкония; хлорид бензэтония; фенол, бутил или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен; катехол; резорцинол; циклогексанол; 3-пентанол и м-крезол); низкомолекулярные (менее чем приблизительно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как EDTA; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы цинк-белок) и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как полиэтиленгликоль (ПЭГ).

II. Наборы и диагностические средства

[0046] В различных аспектах изобретения предусматривается набор, содержащий диагностические средства, терапевтические средства и/или другие терапевтические средства или средства доставки. В некоторых вариантах осуществления предусматривается набор для получения и/или введения терапевтического средства согласно вариантам осуществления. Набор может содержать реагенты, которые могут быть использованы для введения активного или эффективного средства(средств). Например, реагенты набора могут включать по меньшей мере один фармацевтический состав D-VC и по меньшей мере один фармацевтический состав АТО, а также реагенты для получения, составления и/или введения компонентов согласно вариантам осуществления. В следующих аспектах набор может содержать диагностические реагенты, такие как реагенты для определения экспрессии GLUT1 и/или статуса KRAS в образце.

[0047] В некоторых вариантах осуществления набор также может содержать подходящий контейнер, который представляет собой контейнер, который не реагирует с компонентами набора, такой как пробирка Eppendorf, шприц, бутылка или туба. Контейнер может быть изготовлен из поддающихся стерилизации материалов, таких как пластмасса или стекло.

[0048] Кроме того, набор может включать инструкции, в которых описаны процедурные стадии способов, и они соответствуют по существу тем же процедурам, которые описаны в настоящем описании или известны специалисту в данной области.

III. Примеры

[0049] Следующие примеры включены для демонстрации предпочтительных вариантов осуществления изобретения. Специалистам в данной области должно быть понятно, что способы, описанные в примерах, которые описаны ниже, представляют собой способы, разработанные автором изобретения для надлежащего функционирования при применении настоящего изобретения на практике и, таким образом, могут считаться составляющими предпочтительные способы его применения на практике. Однако специалисты в данной области должны, ввиду настоящего изобретения, понять, что многие изменения могут быть внесены в конкретные варианты осуществления, которые описаны, и все еще может быть получен такой же или сходный результат без отклонения от сущности и объема изобретения.

Пример 1 - Испытание *in vitro* обработки посредством D-VC злокачественных клеток с мутантным KRAS.

[0050] Клетки рака ободочной и прямой кишки HCT116 обрабатывали в течение 72 часов PBS, 1 mM раствором витамина C (VC), 1 mM D-витамином SVC (D-VC, также указываемый как D-аскорбиновая кислота), 5 мкМ триоксидом мышьяка (АТО), витамином C и АТО (VC/АТО), или D-VC и АТО (D-VC/АТО) (фиг.1). Как и ожидалось, АТО оказывал мягкое цитотоксическое действие по сравнению с буфером отдельно, в то время как обработка витамином C и АТО индуцировала значительно более сильную цитотоксичность, чем обработка буфером или витамином C отдельно (фиг.1). Интересно, что обработка D-

VC и АТО вызывала в равной степени устойчивую цитотоксичность (фиг.1). Сходный синергический цитотоксический эффект VC/АТО и D-VC/АТО также наблюдался в других злокачественных клетках с мутантным KRAS, включая HPAC и злокачественные клетки MiaPaCA2 (поджелудочная железа) и A549 (легкое). Однако, ни одна из комбинаций не индуцировала цитотоксичность в PC3 (клетки рака предстательной железы PTEN-нуль) или первичных фибробластах легких, что указывает на то, что индукция цитотоксичности может быть ограничена злокачественными клетками с мутантным KRAS.

[0051] Для подтверждения этих результатов проводили измерение апоптоза в проточно-цитометрическом анализе, определяющем аннексин V, конъюгированный с FITC, для измерения апоптоза (фиг.2). Обработка витамином C или его D-энантиомером продемонстрировала уровень апоптоза, сходный с контролем в виде буфера (фиг.2 и 3, сравнивающие VC и D-VC против PBS). Как и ожидалось, обработка 5 мкМ АТО индуцировала низкое повышение апоптоза относительно контроля в виде буфера, однако обработка витамином C или аналогом D-витамином C вместе АТО индуцировала значительно больший апоптоз, чем АТО отдельно (фиг.2 и 3).

[0052] Ожидалось, что причиной цитотоксического стресса и апоптоза было накопление активных форм кислорода (ROS), так что клетки HCT116 обрабатывали, как описано выше, и анализировали в отношении присутствия ROS посредством проточной цитометрии (фиг.4). Аналогично анализу цитотоксичности и апоптоза, обработка витамином C или его D-энантиомером не индуцировала увеличение образования ROS выше исходного уровня, и было обнаружено, что приблизительно 5% клеток были накапливающими ROS (фиг.4 и 5). Обработка 5 мкМ АТО увеличивала количество клеток, демонстрирующих накопление ROS, до 26% (фиг.4 и 5). Обработка витамином C или D-витамином C в дополнение к АТО увеличивала образование ROS, так что было обнаружено, что приблизительно 95% клеток накапливали ROS (фиг.4 и 5).

Пример 2 - Исследование на ксенотрансплантатах *in vivo* лечения посредством D-VC злокачественной опухоли с мутантным KRAS.

[0053] Было показано, что VC действует посредством конкуренции с глюкозой. Во избежание колебаний уровней глюкозы в крови, пищу забирали у мышей за 2 ч перед инъекциями лекарственных средств и пищу возвращали мышам через 2 ч после инъекции VC или D-VC.

[0054] Первоначально, VC или D-VC (2 г/кг) инъекцировали с АТО (8 мг/кг) одновременно. Инъекции в течение 2 недель не были токсичными для мышей: масса тела не уменьшалась). Размер опухоли не демонстрировал поддающегося измерению изменения при определении с использованием толщиномера.

[0055] Для оптимизации инъекций лекарственных средств применяли перерыв 2 ч (временной интервал) между инъекциями АТО и VC или D-VC. После второй инъекции все мыши (группа из 5 мышей) в группе инъекций АТО+VC погибли, и только 2 мыши погибли в группе 5, в которой проводили инъекции АТО+D-витамина C. Это показало, что использование 2-ч перерыва между инъекциями вызывало значительное токсическое

воздействие, что указывает на то, что комбинация лекарственных средств действовала более эффективно путем обеспечения оксидативного стресса в тканях мышечной. Также это указывает на то, что D-VC является менее токсичным, чем VC, в комбинации с АТО. Концентрации лекарственных средств снижали, чтобы избежать токсичности, и их оптимизировали для инъекций мышам (VC или D-витамин С 1,5 г/кг и АТО 7 мг/кг). Оптимизированные концентрации лекарственных средств были эффективными в отношении подавления роста опухоли с мутантным KRAS.

[0056] 1,5 миллиона клеток злокачественной опухоли человека HCT116 (мутант KRAS) инъецировали мышам nude, 5 мышей на экспериментальную группу. Через 10 суток и после достижения опухолью размера по меньшей мере 0,8 см мышам проводили инъекцию каждые сутки PBS, PBS+1,5 г/кг витамина С, PBS+7 мг/кг АТО, PBS+7 мг/кг АТО+1,5 г/кг витамина С, PBS+1,5 г/кг D-витамина С, или PBS+7 мг/кг АТО+1,5 г/кг D-витамина С. Мышам проводили инъекцию каждые сутки, 6 раз в неделю, и их оставляли в покое на один день в неделю, с всего 15 инъекциями лекарственных средств. За двое суток до первых инъекций в этих концентрациях проводили инъекцию более низких доз лекарственных средств. Первоначально АТО инъецировали в дозе 3 мг/кг, в то время как витамин С или D-VC инъецировали в дозе 1 г/кг. На следующие сутки АТО использовали в дозе 7 мг/кг, в то время как витамин С и D-VC использовали в дозе 1 г/кг.

[0057] После 9 инъекций ксенотрансплантаты опухолей фотографировали (фиг.6). Было выявлено рубцевание опухолей D-VC (2/5 мышей) и АТО+D-VC (5/5 мышей) у мышей, которым проводили лечение в течение первой недели инъекций (фиг.6). После 12 инъекций опухоли вновь визуализировали (фиг.7). Рубцевание присутствовало в 2/5 опухолей с введением АТО, 2/5 мышей с введением D-VC, 1/5 мышей с введением АТО и витамина С и всех мышей с введением АТО плюс D-VC (фиг.7).

[0058] Затем опухоли извлекали из мышей после 15-й инъекции. Рубцевание, наблюдаемое в результате введения АТО плюс D-VC, приводило к тому, что эти опухоли имели "плоский" внешний вид (фиг.8). Первоначальные рубцы наблюдали после 6 инъекций. Рубцы, наблюдаемые в других группах введения, как правило, появлялись значительно позднее и были менее частыми, чем в случае введения АТО плюс D-VC. Затем проводили взвешивание опухолей из каждой группы введения (фиг.9). Средняя масса опухолей при введении АТО, витамина С и D-VC была более низкой по сравнению с опухолями при введении PBS, однако эти отличия не были статистически значимыми (фиг.9). Как опухоли при введении АТО плюс витамин С, так и опухоли при введении АТО плюс D-VC имели значительно меньший вес, чем опухоли при введении PBS, и опухоли при введении D-VC плюс АТО имели значительно меньший вес, чем опухоли при введении витамина С плюс АТО (фиг.9).

[0059] По сравнению с инъекциями PBS (контроль), все компоненты по отдельности (АТО, витамин С или D-VC) демонстрируют ингибиторный эффект на рост опухоли, и введение D-VC оказалось более эффективным отдельно, однако его эффект не был устойчивым (2 мыши из группы, включавшей 5). Было обнаружено, что комбинированное

лечение является более эффективным, чем инъекция данных лекарственных средств по отдельности, на что указывает уменьшение массы опухоли. Важно, что комбинация D-VC плюс АТО была значительно более эффективной, чем комбинация витамина С плюс АТО. Интересно, что также наблюдалось, что введение комбинации D-VC плюс АТО приводило к рубцеванию или ожогу опухолей в ходе 6 инъекций. Опухоли у этих мышей стали плоскими после 15 инъекций вследствие эффекта рубцевания. Опухоли с рубцами наблюдались у всех 5 мышей, которым проводили инъекцию комбинации АТО и D-VC, в то время как эффект рубцевания, индуцированный введением комбинации АТО плюс витамин С, наблюдался только после 15 инъекций и присутствовал только в 3 из 5 образцов.

[0060] Первоначальные инъекции комбинаций лекарственных средств продемонстрировали только незначительный эффект на рост опухоли, таким образом, дозу увеличивали, как показано выше. Во-вторых, эффект усиливался при применении 2-часового перерыва (временного интервала) между инъекциями АТО и D-VC. Схема инъекций представляла собой: инъекция АТО/2-часовой перерыв/инъекция витамина С или D-VC. Вероятно, витамин С или D-VC инактивируют окисляющее соединение АТО *in vivo*, поскольку как витамин С, так и D-VC являются известными антиоксидантами. Однако эта инактивация наблюдалась только в ксенотрансплантатах опухолей, но не в условиях культивирования клеток. Кроме того, также известно, что эффект введения витамина С на злокачественные клетки с мутантным KRAS зависит от глюкозы. Во избежание колебаний уровня глюкозы в крови и повышения эффекта витамина С и D-VC, инъекции лекарственных средств проводили после изъятия крома у мышей за 2 часа до инъекций АТО, и корм вновь предоставляли только через 2 часа после инъекций витамина С или D-VC.

[0061] Таким образом, было обнаружено, что D-конфигурация VC (D-витамин С или D-VC) является эффективной для индукции оксидативного стресса в злокачественных клетках с мутантным KRAS. Для усиления окислительного действия D-VC на клетки с мутантным KRAS, D-VC вводили в комбинации с другим окислителем, триоксидом мышьяка (АТО). Было определено, что комбинация D-VC/АТО является в высокой степени цитотоксической для злокачественных клеток с мутантным KRAS, происходящих из человека или мыши. Это исследование также указывает на то, что использование комбинации D-VC/АТО является более эффективным в отношении подавления роста опухоли с мутантным KRAS в модели с ксенотрансплантатом мыши, чем комбинация L-формы витамина С (VC) и АТО. Таким образом, комбинацию D-VC и АТО можно использовать для лечения злокачественных опухолей с мутантным KRAS. Мутации KRAS являются частыми при раке поджелудочной железы, ободочной и прямой кишки и легкого, и отсутствует эффективное вмешательство онкогена KRAS. Изобретение, описанное в настоящем описании, обеспечивает мощную цитотоксическую комбинацию для лечения мутантных злокачественных клеток и, в частности, злокачественных клеток с мутантным KRAS. Подход с комбинированием D-VC и АТО можно также применять к любому типу злокачественной опухоли, ассоциированному с высокой экспрессией GLUT1 или к

злокачественным опухолям с высоким поглощением глюкозы.

[0062] Все способы, описанные и заявленные в настоящем описании, можно осуществлять и проводить без излишнего экспериментирования ввиду настоящего изобретения. В то время как композиции и способы по настоящему изобретению описаны посредством предпочтительных вариантов осуществления, специалистам в данной области будет понятно, что можно использовать варьирование способов и стадий или последовательности стадий способа, описанного в настоящем описании, без отклонения от идеи, сущности и объема изобретения. Более конкретно, будет понятно, что определенными агентами, которые являются как химически, так и физиологически родственными, можно заменять агенты, описанные в настоящем описании, при достижении тех же или сходных результатов. Все такие сходные замены и модификации, понятные специалистам в данной области, считаются входящими в пределы сущности, объема и идеи изобретения, как определено в прилагаемой формуле изобретения.

ССЫЛКИ:

Следующие ссылки, до той степени, в которой они обеспечивают иллюстративные методические или другие детали, дополнительные для тех, которые описаны в настоящем описании, специально включены в настоящее описание в качестве ссылок.

Dinnen *et al.*, *Mol Cancer Ther.*, 12(12):2792-2803, 2013.

Grad *et al.*, *Blood*, 96(3):805-813, 2001.

Yedjou *et al.*, *Arch Drug Info.*, 2:59-65, 2009.

Yun *et al.*, *Science*, 350(6266): 1391-1396, 2015.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения злокачественной опухоли у индивидуума, включающий воздействие на злокачественные клетки оксидативного стресса посредством введения индивидууму эффективного количества триоксида мышьяка (ATO) или его фармацевтически приемлемых солей и эффективного количества второго окислителя, где злокачественная опухоль демонстрирует повышенную экспрессию GLUT1.

2. Способ по п. 1, где второй окислитель выбран из группы, состоящей из куркумина, бетулиновой кислоты, синтетического нестероидного противовоспалительного лекарственного средства (NSAID), GT-094, целастрола, толперизона и ланперизона.

3. Способ по п. 1, где злокачественная опухоль представляет собой злокачественную опухоль с мутантным KRAS.

4. Способ по п. 3, где злокачественная опухоль протестирована, и определено, что она имеет мутацию KRAS.

5. Способ по п. 1, где злокачественная опухоль демонстрирует высокое поглощение глюкозы.

6. Способ по п. 1, где злокачественная опухоль протестирована, и определено, что она демонстрирует повышенную экспрессию GLUT1.

7. Способ по п. 1, где второй окислитель вводят в пределах 24 часов от введения ATO.

8. Способ по п. 7, где второй окислитель вводят в пределах 8, 6, 4 или 2 часов от введения ATO.

9. Способ по п. 8, где второй окислитель вводят в пределах 1 часа от введения ATO.

10. Способ по п. 1, где ATO вводят после введения второго окислителя.

11. Способ по п. 10, где ATO вводят приблизительно через 2 часа после второго окислителя.

12. Способ по п. 1, где индивидуум является голодным.

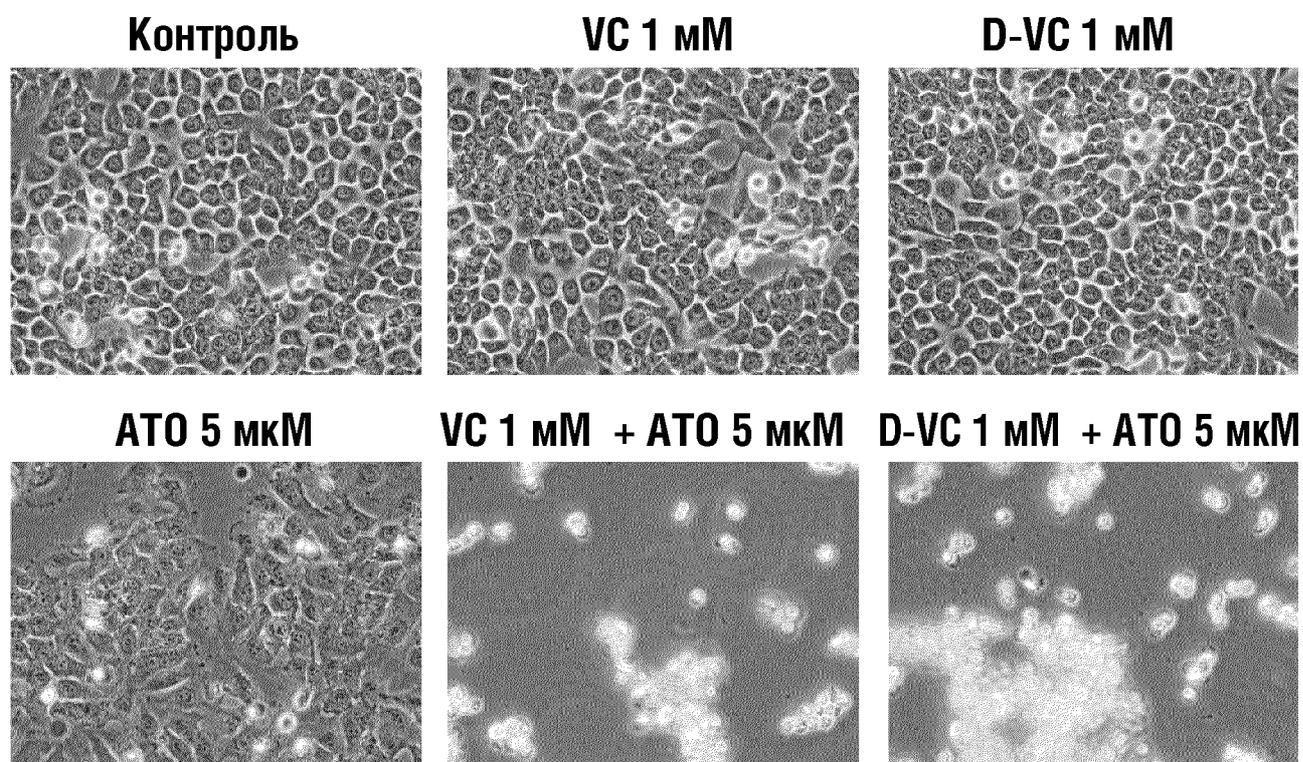
13. Способ по п. 1, где индивидуум голодает в течение по меньшей мере 1 часа перед введением ATO.

14. Способ по п. 13, где индивидуум голодает в течение по меньшей мере 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 или 24 часов перед введением ATO.

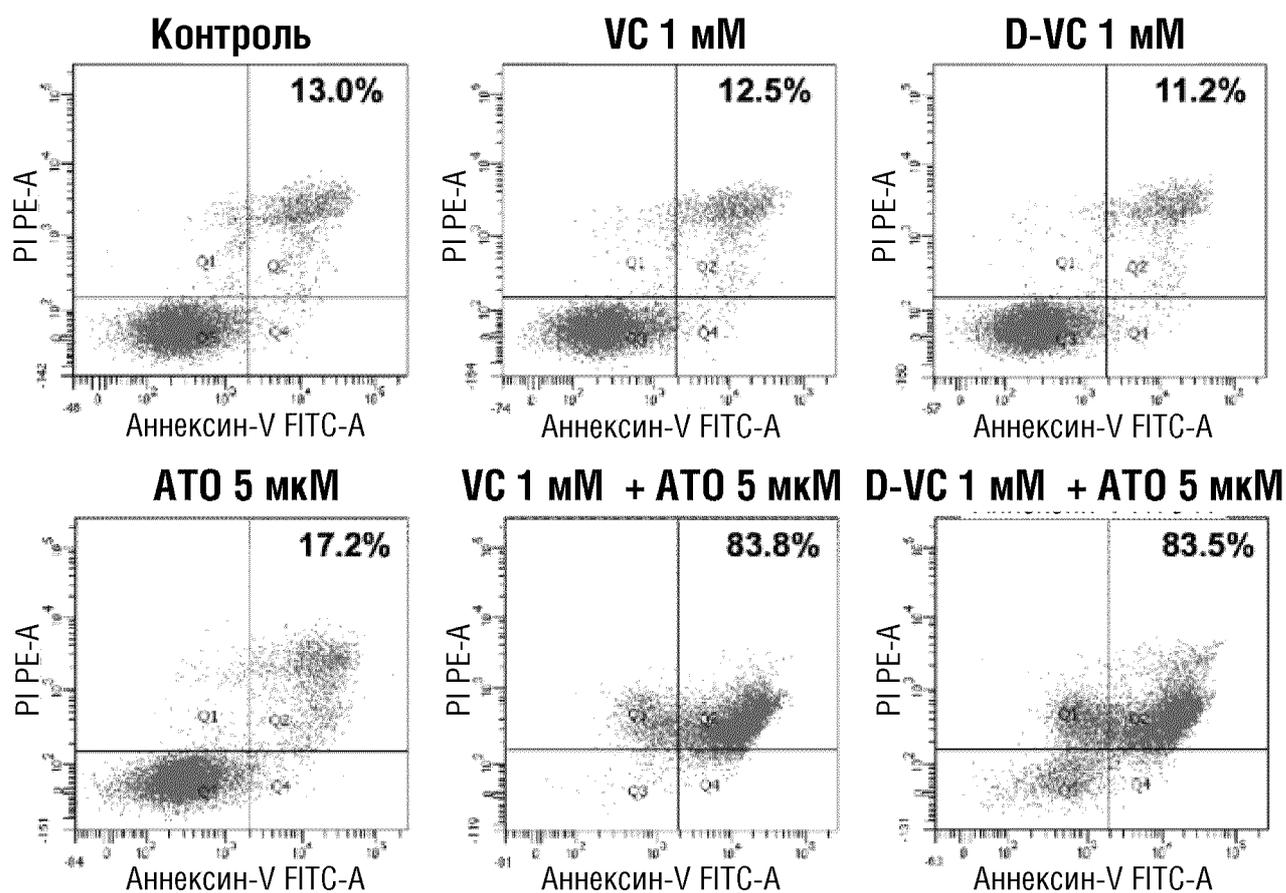
15. Способ по п. 1, дополнительно включающий тестирование уровня глюкозы в крови индивидуума перед введением ATO.

По доверенности

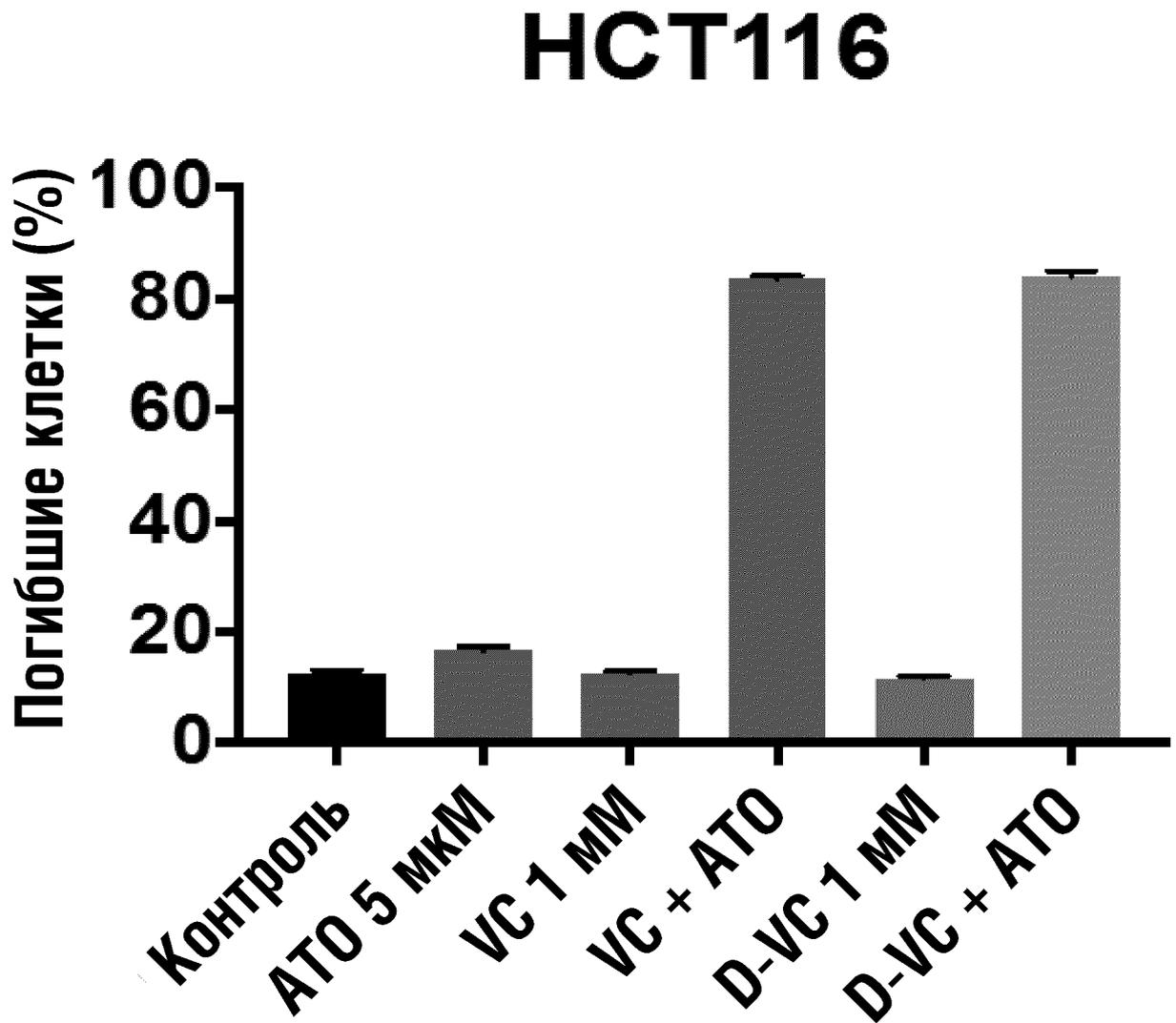
ФИГ.1



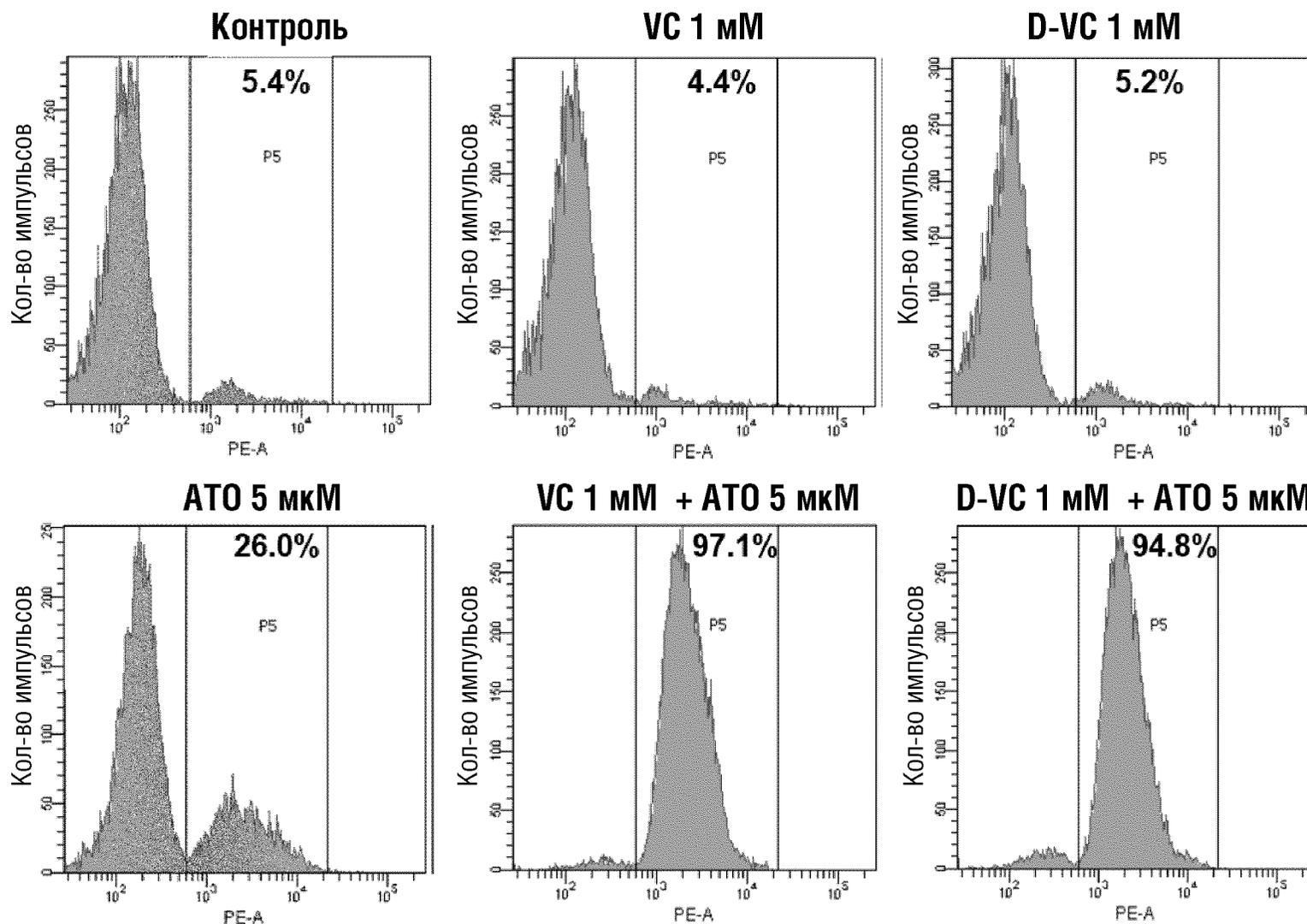
ФИГ.2



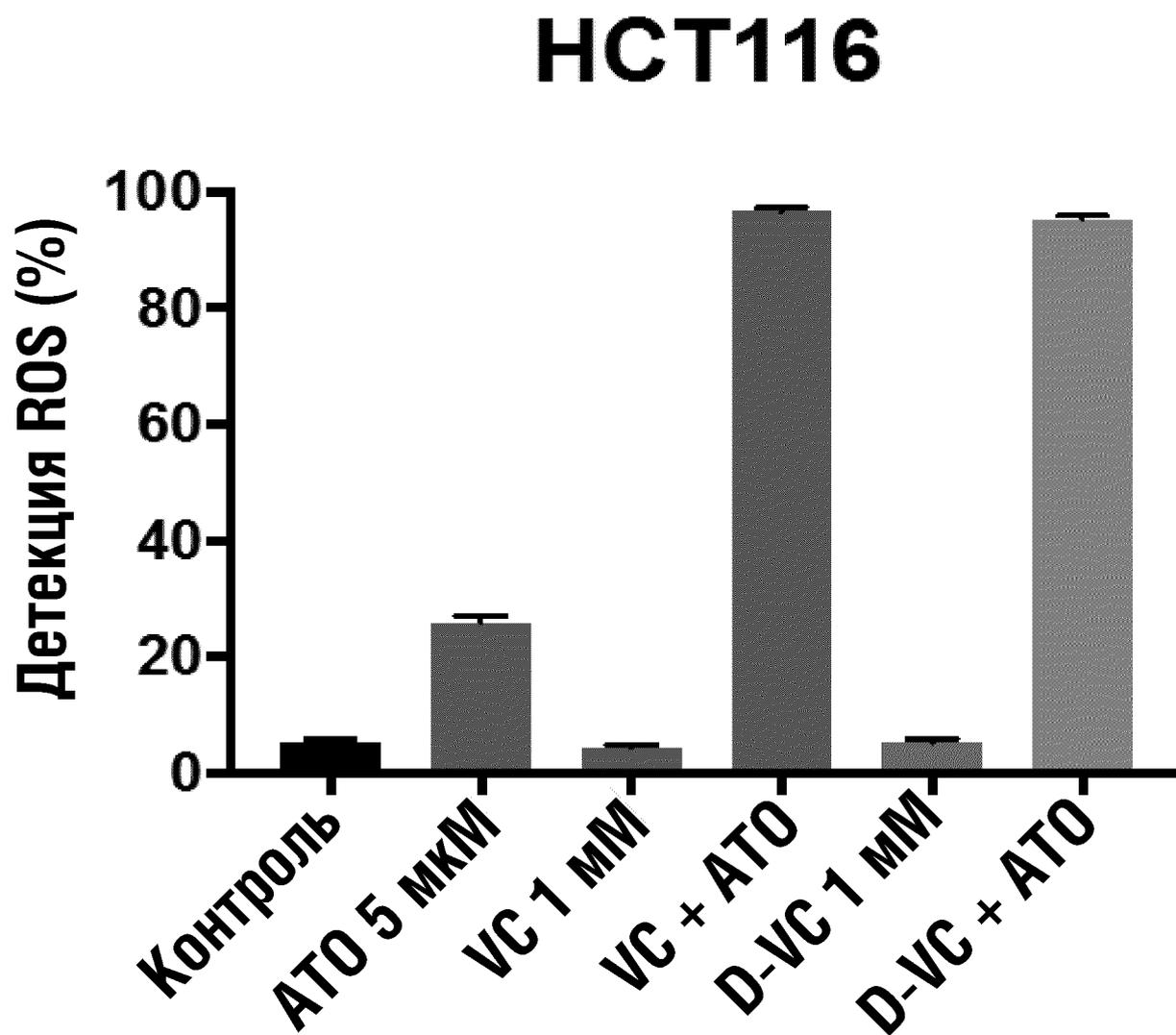
ФИГ.3



ФИГ.4



ФИГ.6



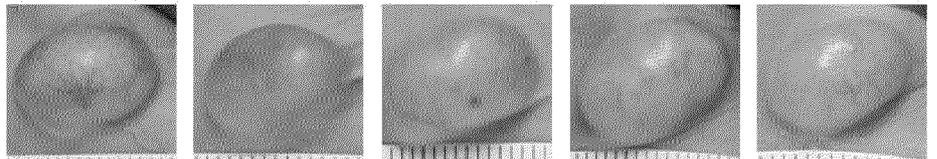
ФИГ.6

Изображения ксенотрансплантатов опухолей
НСТ116 после 9 инъекций

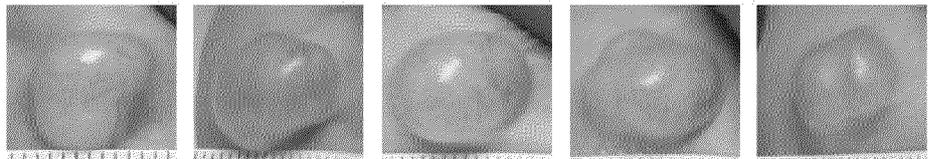
Контроль



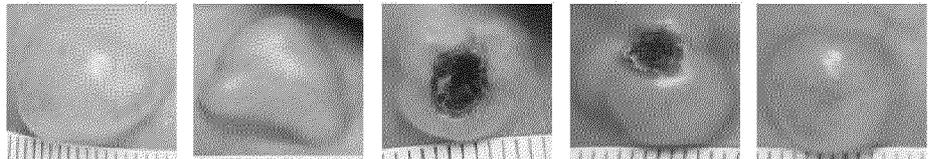
ATO



VC



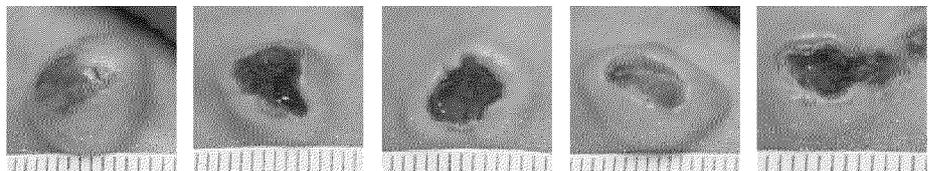
D-VC



VC+ATO



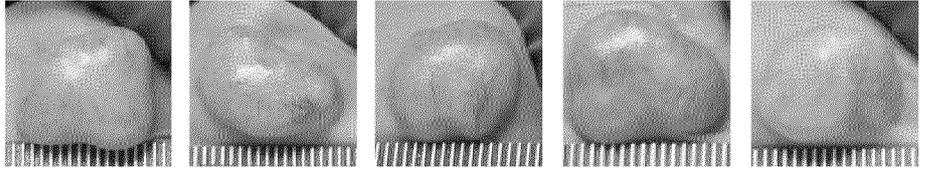
D-
VC+ATO



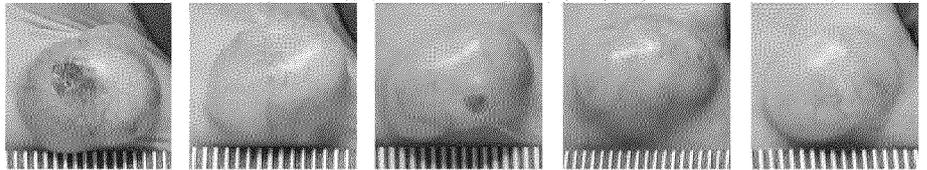
ФИГ.7

Изображения ксенотрансплантатов опухолей
HCT116 после 12 инъекций

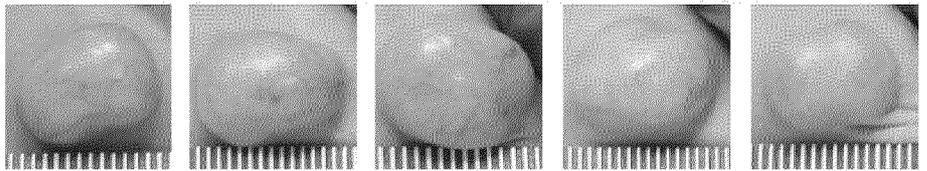
Контроль



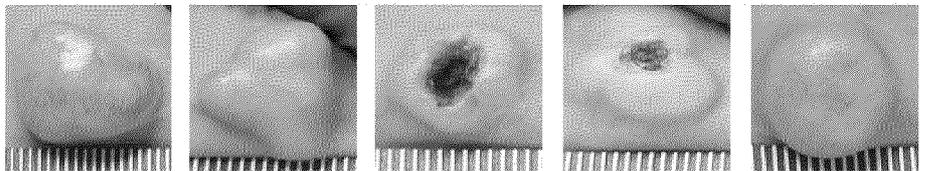
ATO



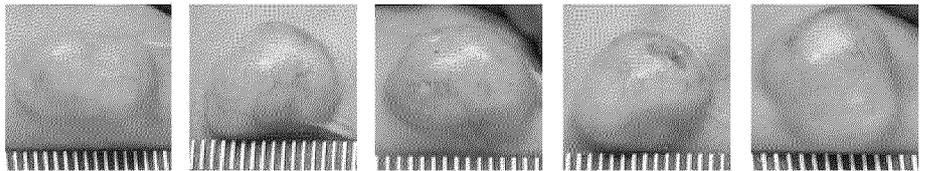
VC



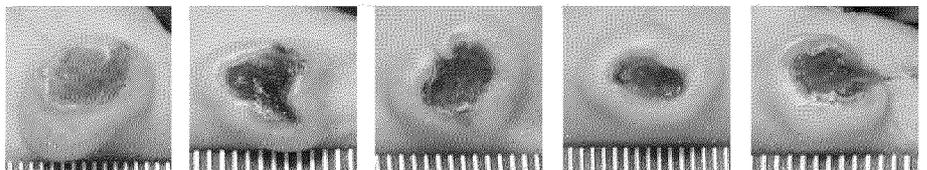
D-VC



VC+ATO

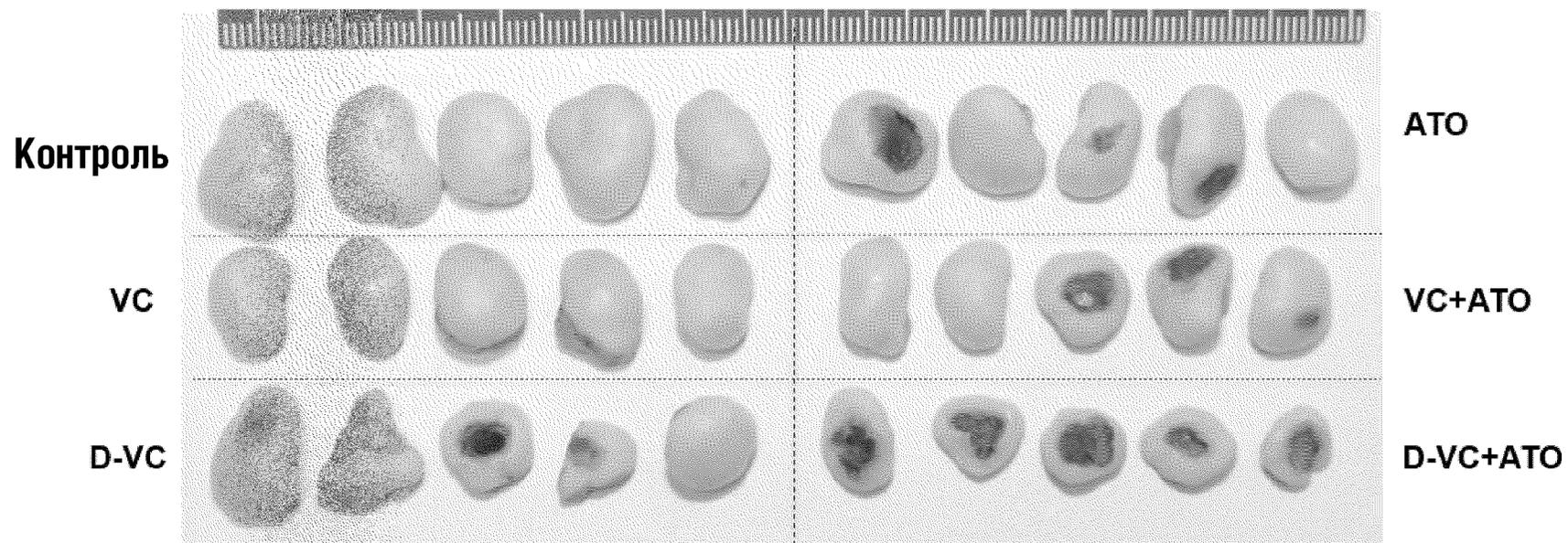


D-
VC+ATO

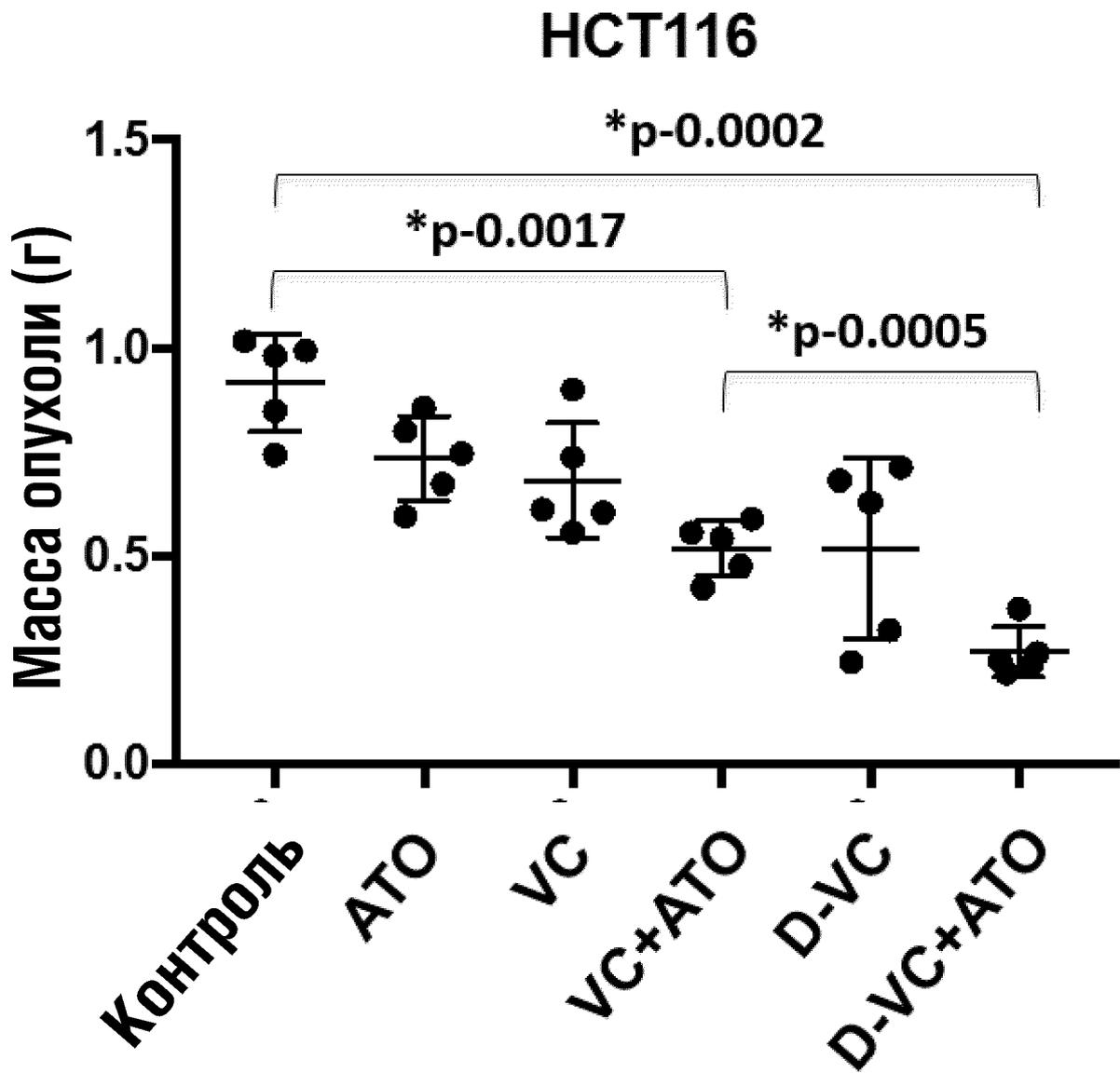


ФИГ.8

**Изображения извлеченных ксенотрансплантированных опухолей
НСТ116 после 15-й инъекции лекарственного средства**



ФИГ.9



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference UTFC.P1376WO	FOR FURTHER ACTION	see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.
International application No. PCT/US 19/47334	International filing date (<i>day/month/year</i>) 20 August 2019 (20.08.2019)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 21 August 2018 (21.08.2018)
Applicant BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 2 sheets.

It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

the international application in the language in which it was filed.

a translation of the international application into _____ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).

b. This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. **Certain claims were found unsearchable** (see Box No. II).

3. **Unity of invention is lacking** (see Box No. III).

4. With regard to the **title**,

the text is approved as submitted by the applicant.

the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

the text is approved as submitted by the applicant.

the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the **drawings**,

a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____

as suggested by the applicant.

as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.

as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.

b. none of the figures is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 19/47334

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC(8) - A61K 31/4025; A61K 31/41; A61K 31/7135 (2019.01)
 CPC - A61K 2300/00; A61K 31/4025; A61K 31/41

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

See Search History Document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

See Search History Document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

See Search History Document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X - Y	Grad et al. "Ascorbic acid enhances arsenic trioxide-induced cytotoxicity in multiple myeloma cells" Blood. 2001, vol 98, pg. 1-31; pg. 1, abstract, pg. 3, para 2, pg. 21, para 3	1, 7-13, 18-27, 31-33, 35-42, 44, 47-50, 56-60, 65, 72-76 ----- 2-6, 14-17, 28-30, 34, 43, 45-46, 51-55, 61-64, 66-71, 77-80
Y	Li. "Vitamin C, a Multi-Tasking Molecule, Finds a Molecular Target in Killing Cancer Cells" Reactive Oxygen Species. 01 March 2016 (01.03.2016) vol 1, pg. 141-156; pg. 141, abstract, pg. 149, right col, para 1	2-6, 34, 43, 45-46, 51-55, 66-71
Y	Biase et al. "Fasting-Mimicking Diet Reduces HO-1 to Promote T Cell-Mediated Tumor Cytotoxicity" Cancer Cell. 11 July 2016 (11.07.2016) vol 30, pg. 136-146; pg. 136, abstract, pg. 137, left col, para 1	14-17, 28-30, 61-64, 77-80
Y	US 9,931,315 B2 (ADT PHARMACEUTICALS, INC) 03 April 2018 (03.04.2018); col 4, ln 49-53, col 8, ln 35-40	43, 66
A	WO 2016/069458 A1 (SUMMA HEALTH SYSTEM) 06 May 2016 (06.05.2016); para [0002], [0041]	1-80
A	Noguera et al. "High-dose ascorbate and arsenic trioxide selectively kill acute myeloid leukemia and acute promyelocytic leukemia blasts in vitro" Oncotarget. 06 March 2017 (06.03.2017) vol 16, pg. 1-15	1-80

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 October 2019

Date of mailing of the international search report

12 NOV 2019

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
 P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450
 Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer:

Lee W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300
 PCT OSP: 571-272-7774