

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **045904**

(13) **B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2024.01.17**

**(21)** Номер заявки  
**202092187**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2016.06.29**

**(51)** Int. Cl. *A61K 31/436* (2006.01)  
*A61K 38/38* (2006.01)  
*A61P 35/04* (2006.01)  
*B82Y 5/00* (2011.01)  
*G01N 33/574* (2006.01)

---

**(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ЭПИТЕЛИОИДНОКЛЕТОЧНЫХ ОПУХОЛЕЙ**

---

**(31)** 62/186,252

**(32)** 2015.06.29

**(33)** US

**(43)** 2021.08.31

**(62)** 201890157; 2016.06.29

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**АБРАКСИС БАЙОСАЙЕНС, ЭлЭлСи  
(US)**

**(72)** Изобретатель:  
**Десай Нил П. (US)**

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

**(56)** WO-A1-2008109163

DICKSON M.A. et al. Extrarenal perivascular epithelioid cell tumors (PEComas) respond to mTOR inhibition: Clinical and molecular correlates. INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER, vol. 132, no. 7, 2012-09-21, p. 1711-1717, DOI: 10.1002/ijc.27800, abstract, p. 1711, 1712, table 2

ALGULNIK M. New Developments in Mammalian Target of Rapamycin Inhibitors for the Treatment of Sarcoma. Cancer. 15.03. 2012, Vol. 118, No. 6; DOI: 10.1002/cncr.26361, p. 1486-1497; 1489 WO-A1-2014144405

EL-HASHEMITE N. et al. Mutation in TSC2 and activation of mammalian target of rapamycin signalling pathway in renal angiomyolipoma. LANCET, vol. 361, no. 9366, 2003, p. 1348-1349, XP085425590, ISSN: 0140-6736, DOI: 10.1016/50140-6736(03)13044-9, abstract, p. 1349

ARMAH H.B. et al. Malignant perivascular epithelioid cell tumor (PEComa) of the uterus with late renal and pulmonary metastases: a case report with review of the literature. DIAGNOSTIC PATHOLOGY, vol. 2, no. 1, 2007-01-01, p. 45, ISSN: 1746-1596, DOI: 10.1186/1746-1596-2-45, abstract, p. 3-4, 6, fig. 2B, 3C

---

**(57)** Изобретение относится к способам и композициям для лечения эпителиоидноклеточных опухолей (таких как ПЕКома) введением композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR и альбумин.

---

**B1**

**045904**

**045904**

**B1**

### **Перекрестная ссылка на родственные заявки**

Заявка на данное изобретение заявляет преимущество приоритета предварительной патентной заявки США № 62/186252, поданной 29 июня 2015 г., содержание которой включено здесь посредством ссылки во всей ее полноте.

### **Область техники, к которой относится изобретение**

Настоящее изобретение относится к способам и композициям для лечения пролиферативных заболеваний, относящихся к семейству эпителиоидноклеточных опухолей, таких как периваскулярные эпителиоидноклеточные опухоли (ПЕКОмы), введением композиций, включающих наночастицы, содержащие ингибитор mTOR, такой как лекарственный препарат из группы лимусов, и альбумин.

### **Уровень техники**

Периваскулярные эпителиоидноклеточные опухоли (ПЕКОмы) представляют собой семейство редких мезенхимальных новообразований, состоящих из гистологически и иммуногистохимически характерных эпителиоидных клеток. Семейство опухолей ПЕКОм включает, например, лимфангиолейомиоматоз (LAM), ангиомиолипому (AML), светлоклеточные "сахарные" опухоли легких, и ПЕКОмы других локализаций (ПЕКОмы-NOS), термин, относящийся к хуже охарактеризованным ПЕКОмам другого анатомического происхождения). ПЕКОмы имеют характерный клеточный тип, а именно периваскулярные эпителиоидные клетки, и часто структурированы как гнезда и листы, или иногда веретенообразные клетки, с фокальной ассоциацией со стенками кровеносных сосудов. См. Hornick J.L. et al., *Histopathology*, 48:75-82 (2006); Wildgruber M. et al., *World J. Surg. Oncol.*, 12:1-4 (2014).

Несмотря на то, что большинство ПЕКОм являются доброкачественными опухолями, подгруппа агрессивных ПЕКОм проявляет злокачественный характер и образует, например, локально инвазивные или отдаленные метастазы. См. Gennatas C. et al., *World J. Surg. Oncol.*, 10:1-4 (2012); Wagner A.J. et al., *J. Clin. Oncol.*, 28:835-840 (2010); Koenig A.M. et al., *J. Med. Case Reports*, 3:1-5 (2009).

Лечением первой линии ПЕКОм является хирургическая резекция. См., Martignoni G. et al., *Virkhows Arch.*, 452:119-132 (2008). Схема лечения химиотерапией и/или лучевой терапией остается спорной. Редкость зарегистрированных ПЕКОм мешала применению спланированных терапевтических испытаний для исследования новой схемы лечения ПЕКОм. См. Selvaggi F. et al., *BMC Surg.*, 11 (2011); Waters P.S. et al., *Int. J. Surg. Case Reports*, 3:89-91 (2012). В настоящее время отсутствует лечение второй линии для неоперабельных, агрессивных, распространенных, местно-распространенных, метастатических или злокачественных ПЕКОм. Следовательно, эти подгруппы ПЕКОм остаются очень трудными для лечения. Прогноз для пациентов в этих подгруппах пациентов является неблагоприятным, при этом средняя выживаемость оценивается в 12-17 месяцев после диагностики распространенного типа заболевания. Кроме того, например, 5-летняя выживаемость пациенток с метастатической ПЕКОмой матки составляет примерно 16%. См., Khaja F. et al., *Case Reports in Medicine*, 2013:1-4 (2013).

Раскрытие всех публикаций, патентов, заявок на патент и опубликованных патентных заявок, упомянутых здесь, включено в описание путем ссылки во всей их полноте.

### **Сущность изобретения**

Настоящее изобретение в некоторых вариантах осуществления обеспечивает способ лечения эпителиоидной опухоли у субъекта, где способ включает введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR и альбумин. В некоторых вариантах осуществления эпителиоидная опухоль представляет собой периваскулярную эпителиоидноклеточную опухоль (ПЕКОму). В некоторых вариантах осуществления ПЕКОма выбрана из группы, состоящей из светлоклеточной "сахарной" опухоли легких, и ПЕКОмы других локализаций (ПЕКОмы-NOS), ангиомиолипомы и лимфангиолейомиоматоза. В некоторых вариантах осуществления эпителиоидная опухоль является злокачественной. В некоторых вариантах осуществления эпителиоидная опухоль является местно-распространенной. В некоторых вариантах осуществления эпителиоидная опухоль является метастатической.

В некоторых вариантах осуществления согласно любому из способов, описанных выше, ингибитор mTOR представляет собой лекарственный препарат из группы лимусов, такой как сиролimus.

В некоторых вариантах осуществления согласно любому из способов, описанных выше, эффективное количество ингибитора mTOR в композиции наночастиц составляет примерно от 10 до примерно 100 мг/м<sup>2</sup> (включая, например, примерно 45-100 мг/м<sup>2</sup>, примерно 75-100 мг/м<sup>2</sup> или примерно 45, 50, 75 или 100 мг/м<sup>2</sup>). В некоторых вариантах осуществления композицию наночастиц вводят еженедельно. В некоторых вариантах осуществления композицию наночастиц вводят 2 раза в 3 недели. В некоторых вариантах осуществления композицию наночастиц вводят 3 раза в 4 недели. В некоторых вариантах осуществления композицию наночастиц вводят на 1 и 8 сутки 21-суточного цикла. В некоторых вариантах осуществления композицию наночастиц вводят на 1, 8 и 15 сутки 28-суточного цикла.

В некоторых вариантах осуществления согласно любому из способов, описанных выше, композицию наночастиц вводят внутривенно, внутриаартериально, внутрибрюшинно, интравезикулярно, подкожно, интратекально, интрапульмонарно, внутримышечно, внутритрахеально, интраокулярно, чрескожно, перорально, интрапортально, внутривенно, посредством инфузии в печеночную артерию или ингаляционно. В некоторых вариантах осуществления композицию наночастиц вводят внутривенно. В неко-

торых вариантах осуществления композиция наночастиц вводится подкожно.

В некоторых вариантах осуществления согласно любому из способов, описанных выше, наночастицы в композиции имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм, например, не более чем примерно 120 нм.

В некоторых вариантах осуществления согласно любому из способов, описанных выше, ингибитор mTOR в наночастицах связан (например, покрыт) с альбумином.

В некоторых вариантах осуществления согласно любому из способов, описанных выше, субъект является человеком.

В некоторых вариантах осуществления согласно любому из способов, описанных выше, субъект отобран для лечения, основываясь на уровне (например, высоком уровне) меланочитарного маркера (включая, например, HMB45, MelanA и микрофталмия-ассоциированный транскрипционный фактор) и гладкомышечного маркера (включая, например, гладкомышечный актин, пан-мышечный актин, h-кальдесмон и кальпонин). В некоторых вариантах осуществления уровень меланочитарного маркера и гладкомышечного маркера определяется иммуногистохимией.

В некоторых вариантах осуществления согласно любому из способов, описанных выше, субъект отобран для лечения, основываясь на мутационном статусе гена, выбранного из группы, состоящей из TSC1, TSC2, TFE3, RHEB, MTOR, AKT, PIK3CA и PTEN. В некоторых вариантах осуществления субъект отобран для лечения, если субъект имеет мутацию в гене, например, как определено секвенированием гена. В некоторых вариантах осуществления секвенирование гена основано на секвенировании циркулирующей или бесклеточной ДНК в образце крови. В некоторых вариантах осуществления секвенирование гена основано на секвенировании ДНК в образце опухоли.

В некоторых вариантах осуществления согласно любому из способов, описанных выше, субъект отобран для лечения, основываясь на статусе фосфорилирования белка, выбранного из группы, состоящей из AKT, S6, S6K и 4EBP1. В некоторых вариантах осуществления субъект отобран для лечения, если белок у субъекта фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления субъект отобран для лечения, если белок у субъекта не фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления статус фосфорилирования белка определяется иммуногистохимией.

В некоторых вариантах осуществления согласно любому из способов, описанных выше, субъект отобран для лечения, основываясь на уровне маркера пролиферации или маркера апоптоза, такого как маркер пролиферации Ki-67 или маркер апоптоза, PARP или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления субъект отобран для лечения, основываясь на уровне маркера пролиферации и маркера апоптоза, например, как определено иммуногистохимией.

В некоторых вариантах осуществления согласно любому из способов, описанных выше, субъект ранее не подвергался лечению ингибитором mTOR.

В некоторых вариантах осуществления согласно любому из способов, описанных выше, субъект ранее подвергался лечению химиотерапией, лучевой терапией или хирургической операцией.

Данные и другие аспекты и преимущества настоящего изобретения станут очевидными из последующего подробного описания и прилагаемой формулы изобретения.

Следует понимать, что одно, некоторые или все свойства различных вариантов осуществления, описанных здесь, можно комбинировать с образованием других вариантов осуществления настоящего изобретения.

### **Подробное описание изобретения**

Настоящее изобретение относится к способам и композициям для лечения эпителиоидноклеточных опухолей, таких как периваскулярные эпителиоидноклеточные опухоли (ПЕКомы), у субъекта, нуждающегося в этом, включающим введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (далее также относится к "композиции наночастиц mTOR") и альбумин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин (далее также относится к "композиции наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов").

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКомы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат из группы лимусов представляет собой сиролимус. В некоторых вариантах осуществления альбумин представляет человеческий альбумин (такой как человеческий сывороточный альбумин). В некоторых вариантах осуществления наночастицы содержат сиролимус, связанный с (например, покрытый) альбумином. В некоторых вариантах осуществления наночастицы имеют средний размер частиц в композиции наночастиц не более чем примерно 150 нм (например, не более чем примерно 120 нм). В некоторых вариантах осуществления композиция включает стабилизированную альбумином композицию наночастиц сиролимуса. В некоторых вариантах осуществления композиция представляет собой Nab-сиролимус.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКомы у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержа-



дление выживаемости. Также термин "лечение" охватывает снижение патологических последствий ПЕКомы. Способы по изобретению предусматривают любой один или более из этих аспектов лечения.

Термин "субъект" относится к млекопитающему и включает, не ограничиваясь этим, человека, представителей бычьих, лошадиных, кошачьих, собачьих, грызунов или приматов. В некоторых вариантах осуществления субъект является человеком.

Как здесь используется, субъект, "подверженный риску", является субъектом, у которого имеется риск развития ПЕКомы. Субъект, "подверженный риску", может иметь или может не иметь детектируемого заболевания и может иметь или может не иметь детектируемого заболевания до применения способов лечения, описанных здесь. "Подверженный риску" означает, что у субъекта имеется один или более так называемых факторов риска, которые являются измеряемыми параметрами, которые коррелируют с развитием ПЕКомы, описанные здесь. У субъекта, имеющего один или более из этих факторов риска, имеется более высокая вероятность развития рака, чем у субъекта без этих факторов риска.

"Адьювантный режим" относится к клинической ситуации, в которой у субъекта была история ПЕКомы, и обычно (но не обязательно) он отвечает на терапию, которая включает, не ограничиваясь этим, хирургическую операцию (например, хирургическую резекцию), лучевую терапию и химиотерапию. Однако за счет истории ПЕКомы у них эти субъекты считаются подверженными риску дальнейшего развития болезни. Лечение или введение в "адьювантном режиме" относится к последующему способу лечения. Степень риска (например, когда субъект в адьювантных условиях считается субъектом с "высоким риском" или "низким риском") зависит от нескольких факторов, чаще всего от степени развития заболевания при первом лечении.

"Неоадьювантный режим" относится к клинической ситуации, в которой способ проводится до первичной/дефинитивной терапии.

Как здесь используется, "задержка" развития ПЕКомы означает откладывание, препятствование, замедление, задержку, стабилизацию и/или отложение развития болезни. Эта задержка может быть разной продолжительности времени, в зависимости от истории болезни и/или субъекта, который лечится. Как очевидно специалисту в данной области, достаточная или значительная задержка может, по сути, включать предупреждение, поскольку у субъекта не развивается болезнь. Способ, который "задерживает" развитие ПЕКомы, представляет собой способ, который уменьшает вероятность развития заболевания в определенный период времени и/или уменьшает степень развития заболевания в определенный период времени по сравнению с отсутствием применения способа. Такие сравнения обычно основаны на результатах клинических исследований с использованием статистически значимого числа субъектов. Развитие ПЕКомы можно обнаружить с использованием стандартных методов, включая, не ограничиваясь этим, компьютеризованную аксиальную томографию (CAT Scan), магнитно-резонансную томографию (МРТ), абдоминальное ультразвуковое исследование, анализ на свертываемость крови, ангиографию или биопсию. Развитие также может относиться к прогрессированию ПЕКомы, которая первоначально может быть недетектируемой, и включает появление, рецидивирование и начало развития.

Как здесь используется, термин "эффективное количество" относится к количеству соединения или композиции, достаточному для лечения определенного расстройства, состояния или заболевания, например, подавления, ослабления, уменьшения и/или задержки одного или более его симптомов. По отношению к ПЕКоме эффективное количество включает количество, достаточное для того, чтобы вызвать уменьшение размера опухоли и/или уменьшение скорости роста опухоли (например, подавление роста опухоли) или предупреждение или задержку другой нежелательной клеточной пролиферации в ПЕКоме. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество представляет количество, достаточное для задержки развития ПЕКомы. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество представляет количество, достаточное для предупреждения или задержки рецидивирования. Эффективное количество можно вводить в одном или нескольких введениях. В случае ПЕКомы эффективное количество лекарственного средства или композиции может (i) уменьшить количество эпителиоидных клеток; (ii) уменьшить размер опухоли; (iii) ингибировать, задержать, замедлить до некоторой степени и предпочтительно остановить инфильтрацию злокачественных клеток ПЕКомы в периферические органы; (iv) ингибировать (например, замедлить и предпочтительно остановить) метастазирование опухоли; (v) ингибировать рост опухоли; (vi) предупредить или задержать появление и/или рецидивирование опухоли и/или (vii) облегчить до некоторой степени один или более симптомов, связанных с ПЕКомой.

Как здесь используется, термин "фармацевтически приемлемый" или "фармакологически совместимый" означает вещество, которое не является биологически или иным образом нежелательным, например вещество может быть включено в фармацевтическую композицию, вводимую пациенту, не вызывая каких-либо значительных нежелательных биологических эффектов или не взаимодействуя вредным образом с любым другим компонентом композиции, в состав которой оно входит. Фармацевтически приемлемые носители или эксципиенты предпочтительно удовлетворяют требуемым стандартам токсикологических и производственных испытаний и/или включены в "Руководство по неактивным ингредиентам", изданное Управлением по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными препаратами США.

Как здесь используется, термин "Nab" означает связанную с альбумином наночастицу. Например,

Nab-сиролимус представляет собой препарат сиролимуса на основе наночастицы, связанной с альбумином. Nab-сиролимус также известен как Nab-рапамицин, который ранее был описан, например, в международных заявках WO 2008/109163 A1, WO 2014/151853, WO 2008/137148 A2 и WO 2012/149451 A1.

Как здесь используется, термин "мутационный статус" относится к статусу последовательности гена (например, содержащего мутацию) относительно последовательности гена дикого типа или референсного гена.

Понятно, что аспекты и варианты осуществления изобретения, описанные здесь, включают "содержащий" и/или "содержащий преимущественно" аспекты и варианты осуществления.

Ссылка на "примерно" перед значением или параметром здесь включает (и описывает) варианты, которые направлены на это значение или параметр как таковые. Например, описание, относящееся к "примерно X", включает описание "X".

Как здесь используется и в прилагаемой формуле изобретения, единственные формы включают множественные формы, если контекст явно не диктует иное.

#### **Способ лечения ПЕКом**

Настоящее изобретение относится к способам лечения ПЕКомы у субъекта (такого как человек), включающим введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин. В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способам лечения ПЕКомы у субъекта (например, человека), включающим введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, где лекарственный препарат из группы лимусов в наночастицах связан (например, покрыт) с альбумином. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, где наночастицы имеют средний размер частиц не более чем примерно 150 нм (например, не более чем примерно 120 нм). В некоторых вариантах осуществления средний или медианный диаметр наночастиц составляет примерно от 10 до примерно 150 нм. В некоторых вариантах осуществления средний или медианный диаметр наночастиц составляет примерно от 40 до примерно 120 нм. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, где наночастицы содержат лекарственный препарат из группы лимусов, связанный (например, покрытый) с альбумином, где наночастицы имеют средний размер частиц не более чем примерно 150 нм (например, не более чем примерно 120 нм). В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие сиролимус и человеческий альбумин, где наночастицы содержат сиролимус, связанный (например, покрытый) с человеческим альбумином, где наночастицы имеют средний размер частиц не более чем примерно 150 нм (например, не более чем примерно 120 нм, например, примерно 100 нм), где массовое соотношение человеческого альбумина и сиролимуса в композиции составляет примерно 9:1 или ниже (например, примерно 9:1 или примерно 8:1). В некоторых вариантах осуществления композиция содержит Nab-сиролимус. В некоторых вариантах осуществления композиция представляет Nab-сиролимус.

Как здесь используется, термин "ингибитор mTOR" относится к ингибиторам mTOR. mTOR представляет собой серин/треонин-специфическую протеинкиназу, даунстрим пути фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K)/Akt (протеинкиназы B), и является ключевым регулятором выживаемости, пролиферации, стресса и метаболизма клеток. Нарушение регуляции путей mTOR было обнаружено во многих карциномах человека, и ингибирование mTOR оказывало значительное подавляющее действие на прогрессирование опухолей. Ингибиторы mTOR, описанные здесь, включают, не ограничиваясь этим, BEZ235 (NVP-BEZ235), эверолимус (также известный как RAD001, Зортресс, Сертикан и Афинитор), рапамицин (также известный как сиролимус или Рапамун), AZD8055, темсиролимус (также известный как CCI-779 и Торизел), PI-103, Ку-0063794, INK 128, AZD2014, NVP-BGT226, PF-04691502, CH5132799, GDC-0980 (RG7422), Торин 1, WAY-600, WYE-125132, WYE -687, GSK2126458, PF-05212384 (PKI-587), PP-121, OSI-027, Паломид 529, PP242, XL765, GSK1059615, WYE-354 и эфоролимус (также известный как ридафоролимус или дефоролимус).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR представляет собой лекарственный препарат из группы лимусов, который включает сиролимус и его аналоги. Примеры лекарственных препаратов из группы лимусов включают, без ограничения, темсиролимус (CCI-779), эверолимус (RAD001), ридафоролимус (AP-23573), дефоролимус (МК-8669), зотаролимус (ABT-578), пимекролимус и такролимус (FK-506). В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат из группы лимусов выбран из группы, состоящей из темсиролимуса (CCI-779), эверолимуса (RAD001), ридафоролимуса (AP-23573), дефоролимуса (МК-8669), зотаролимуса (ABT-578), пимекролимуса и такролимуса (FK-506).

В некоторых вариантах осуществления ПЕКомы представляет лимфангиолейомиоматоз. В некоторых вариантах осуществления ПЕКомы представляет ангиомиолиому. В некоторых вариантах осуществ-

вления ПЕКома представляет светлоклеточную "сахарную" опухоль легкого. В некоторых вариантах осуществления ПЕКома представляет экстрапульмонарную светлоклеточную "сахарную" опухоль. В некоторых вариантах осуществления ПЕКома представляет ПЕКома-NOS. В некоторых вариантах осуществления ПЕКома является злокачественной.

В некоторых вариантах осуществления ПЕКома представляет ПЕКому на ранней стадии, неметастатическую ПЕКому, неинвазивную ПЕКому, инвазивную ПЕКому, первичную ПЕКому, распространенную ПЕКому, местно-распространенную ПЕКому, метастатическую ПЕКому, рецидивирующую ПЕКому или ПЕКому в ремиссии. В некоторых вариантах осуществления ПЕКома была резистентной к предшествующей терапии. В некоторых вариантах осуществления ПЕКома является резистентной к лечению препаратом химиотерапевтического агента не в форме наночастиц (таким как препарат не в форме наночастиц ингибитора mTOR, такого как лекарственный препарат из группы лимусов).

В некоторых вариантах осуществления ПЕКома является локализованной операбельной (например, относится к опухолям, которые могут быть полностью удалены хирургическим путем), локализованной неоперабельной (например, относится к локализованным опухолям, которые являются неоперабельными, за счет того, что в патологический процесс вовлечены ключевые структуры кровеносных сосудов) или неоперабельной (например, характеристики опухоли или состояние пациента не дают возможность провести хирургическую операцию по удалению опухоли).

В некоторых вариантах осуществления ПЕКома расположена в или тесно связана с почками, мочевым пузырем, предстательной железой, маткой, яичником, вульвой, влагалищем, легким, поджелудочной железой, печенью, лимфатическим узлом и/или кожей.

В некоторых вариантах осуществления ПЕКома представляет согласно классификации TNM, опухоль стадии I (одиночная опухоль без инвазии сосудов), опухоль стадии II (одиночная опухоль с инвазией сосудов или множественные опухоли диаметром не более 5 см), опухоль стадии III (множественные опухоли диаметром более 5 см), опухоль стадии IV (опухоль с прямой инвазией в соседние органы, кроме желчного пузыря, или прорастанием в висцеральную брюшину), опухоль N1 (метастазы в регионарных лимфатических узлах) или опухоль M1 (отдаленные метастазы). В некоторых вариантах осуществления ПЕКома представляет, согласно критериям AJCC (Американской объединенной комиссии по раку), ПЕКому стадии T1, T2, T3 или T4. В некоторых вариантах осуществления субъект находится на клинической стадии Ta, Tis, T1, T2, T3a, T3b или T4. В некоторых вариантах осуществления субъект находится на клинической стадии Tis, CIS, Ta или T1.

В некоторых вариантах осуществления ПЕКома характеризуется иммуногистохимически положительной экспрессией меланоцитарного маркера и гладкомышечного маркера. В некоторых вариантах осуществления меланоцитарный маркер выбран из группы, состоящей из HMB45, MelanA и микрофталмия-ассоциированного транскрипционного фактора. В некоторых вариантах осуществления гладкомышечный маркер выбран из группы, состоящей из гладкомышечного актина, пан-мышечного актина, h-кальдесмона и кальпонины. В некоторых вариантах осуществления характеристику ПЕКомы проводят на основе биопсии первичной опухоли. В некоторых вариантах осуществления характеристика ПЕКомы проводится на основе биопсии метастатической опухоли. В некоторых вариантах субъект диагностируется как субъект с ПЕКомой по характеристике опухоли с иммуногистохимически положительной экспрессией меланоцитарного маркера и гладкомышечного маркера. В некоторых вариантах осуществления меланоцитарный маркер выбран из группы, состоящей из HMB45, MelanA и микрофталмия-ассоциированного транскрипционного фактора. В некоторых вариантах осуществления гладкомышечный маркер выбран из группы, состоящей из гладкомышечного актина, пан-мышечного актина, h-кальдесмона и кальпонины. В некоторых вариантах осуществления диагноз ставится на основе биопсии первичной опухоли. В некоторых вариантах осуществления диагноз ставится на основе биопсии метастатической опухоли.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения локализованной операбельной ПЕКомы у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает способы лечения локализованной операбельной ПЕКомы у субъекта (например, человека), включающие введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, где лекарственный препарат из группы лимусов в наночастицах связан (например, покрыт) с альбумином. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, где наночастицы имеют средний размер частиц не более чем примерно 150 нм (например, не более чем примерно 120 нм). В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, где наночастицы содержат лекарственный препарат из группы лимусов, связанный (например,







ниже (например, примерно 9:1 или примерно 8:1). В некоторых вариантах осуществления композиция содержит Nab-сиролимус. В некоторых вариантах осуществления композиция представляет Nab-сиролимус.

Способы, обеспеченные здесь, можно использовать для лечения субъекта (например, человека), у которого была диагностирована или имеется подозрение на наличие ПЕКомы. В некоторых вариантах осуществления субъект является человеком. В некоторых вариантах осуществления возраст субъекта составляет по меньшей мере примерно 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80 или 85 лет. В некоторых вариантах осуществления субъект является мужчиной. В некоторых вариантах осуществления субъект является женщиной. В некоторых вариантах осуществления субъект подвергся резекции опухоли. В некоторых вариантах осуществления субъект отказался от хирургической операции. В некоторых вариантах осуществления субъект является неоперабельным с медицинской точки зрения.

В некоторых вариантах осуществления субъект является человеком, у которого проявляются один или более симптомов, связанных с ПЕКомой. В некоторых вариантах осуществления субъект находится на ранней стадии ПЕКомы. В некоторых вариантах осуществления субъект находится на стадии распространенной ПЕКомы. В некоторых вариантах осуществления субъект генетически или иным образом предрасположен (например, имеет фактор риска) к развитию ПЕКомы. Субъекты, подверженные риску развития ПЕКомы, включают, например, субъектов, риск у которых определяется анализом генетических или биохимических маркеров. Такие факторы риска включают, не ограничиваясь этим, возраст, пол, расу, рацион, историю предшествующего заболевания, наличие предшествующего заболевания, генетические факторы (например, мутационный статус клубневого склероза комплекса (ТСК) и воздействие окружающей среды. В некоторых вариантах осуществления субъекты, подверженные риску развития ПЕКомы, включают, например, субъектов, у которых имеются родственники с ПЕКомой, и субъектов, чей риск определяется анализом генетических или биохимических маркеров (например, уровень экспрессии и активности, или мутационный статус). Биомаркеры включают, не ограничиваясь этим, гены пути mTOR, включая, не ограничиваясь этим, PIK3CA, TSC1, TSC2, AKT, PTEN, MTOR, RHEB и TFE3, фосфопротеины, включая, не ограничиваясь этим, p-AKT, p-S6, p-S6K, p-4EBP1, p-SPARC, маркеры пролиферации, включая, не ограничиваясь этим, маркер Ki67, и маркеры апоптоза, включая, не ограничиваясь этим, PARP или его фрагменты. В некоторых вариантах осуществления для оценки биомаркеров используют образец крови или биопсийный образец опухоли субъекта.

Способы, обеспеченные здесь, могут быть осуществлены на практике в адьювантном режиме. В некоторых вариантах осуществления способ применяется на практике в неоадьювантном режиме, т.е. способ может быть проведен до первичной/дефинитивной терапии. В некоторых вариантах осуществления данный способ применяется для лечения субъекта, который ранее подвергался лечению. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее не подвергался лечению. В некоторых вариантах осуществления данный способ применяется в качестве терапии первой линии. В некоторых вариантах осуществления данный способ применяется в качестве терапии второй линии. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее не подвергался лечению ингибитором mTOR. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее не подвергался лечению лекарственным препаратом из группы лимусов.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ продления времени до прогрессирования ПЕКомы у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR и альбумин. В некоторых вариантах осуществления способ продлевает время до прогрессирования заболевания, по меньшей мере, на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 недель. В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR является лекарственным препаратом из группы лимусов. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат из группы лимусов представляет сиролимус. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит Nab-сиролимус. В некоторых вариантах осуществления композиция представляет Nab-сиролимус.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ продления выживаемости субъекта, имеющего ПЕКому, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR и альбумин. В некоторых вариантах осуществления способ продлевает выживаемость субъекта, по меньшей мере, на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 или 24 месяца. В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR является лекарственным препаратом из группы лимусов. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат из группы лимусов представляет сиролимус. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит Nab-сиролимус. В некоторых вариантах осуществления композиция представляет Nab-сиролимус.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ ослабления одного или более симптомов у субъекта, имеющего ПЕКому, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR и альбумин. В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR является лекарственным препаратом из группы лимусов. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат из группы лимусов представляет сиролимус. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит Nab-сиролимус. В некоторых вариантах осуществления композиция представляет Nab-сиролимус.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ повышения качества жизни у субъекта

екта, имеющего ПЕКому, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR и альбумин. В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR является лекарственным препаратом из группы лимусов. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат из группы лимусов представляет сиролимус. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит Nab-сиролимус. В некоторых вариантах осуществления композиция представляет Nab-сиролимус.

В некоторых вариантах осуществления субъект ранее подвергался лечению ПЕКомы (также относится к "предшествующей терапии"). В некоторых вариантах осуществления субъект является резистентным к лечению ПЕКомы другими агентами (такими препараты на основе ингибиторов mTOR, отличные от наночастиц). В некоторых вариантах осуществления субъект первоначально отвечал на лечение ПЕКомы другими агентами, но после лечения опухоль прогрессировала. Предшествующие методы лечения включают, не ограничиваясь этим, химиотерапию, лучевую терапию и хирургическую операцию. В некоторых вариантах осуществления предшествующую терапию отменили более чем или за 28 суток до начала проведения способов, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления предшествующую терапию отменили за период, более чем в пять раз превышающий период полураспада агентов предшествующей терапии, до начала проведения способов, описанных здесь.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеет место рецидивирующая ПЕКома после предшествующей терапии. Например, субъект может первоначально ответить на лечение предшествующей терапией, но ПЕКома развилась примерно через 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 48 или 60 месяцев после отмены предшествующей терапии.

В некоторых вариантах осуществления субъект резистентен к предшествующей терапии.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта имело место прогрессирование заболевания, когда он находился на предшествующей терапии во время лечения. Например, у субъекта имело место прогрессирование заболевания примерно через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев после лечения предшествующей терапией.

В некоторых вариантах осуществления субъект является резистентным к предшествующей терапии.

В некоторых вариантах осуществления субъект не подходит для продолжения предшествующей терапии, например, за счет отсутствия ответа на лечение и/или за счет проявления токсичности.

В некоторых вариантах осуществления субъект не отвечает на предшествующую терапию.

В некоторых вариантах осуществления субъект частично отвечает на предшествующую терапию или проявляет менее требуемую степень реактивности на лечение.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения лимфангиолейомиоматоза у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения лимфангиолейомиоматоза у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения лимфангиолейомиоматоза у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, где лекарственный препарат из группы лимусов в наночастицах связан (например, покрыт) с альбумином. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения лимфангиолейомиоматоза у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, где наночастицы имеют средний размер частиц не более чем примерно 150 нм (например, не более чем примерно 120 нм). В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения лимфангиолейомиоматоза у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, где наночастицы содержат лекарственный препарат из группы лимусов, связанный (например, покрытый) с альбумином и где наночастицы имеют средний размер частиц не более чем примерно 150 нм (например, не более чем примерно 120 нм). В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения лимфангиолейомиоматоза у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие сиролимус и человеческий альбумин, где наночастицы содержат сиролимус, связанный (например, покрытый) с человеческим альбумином, где наночастицы имеют средний размер частиц не более чем примерно 150 нм (например, не более чем примерно 120 нм, например, примерно 100 нм), где массовое соотношение человеческого альбумина и сиролимуса в композиции равно примерно 9:1 или ниже (например, примерно 9:1 или примерно 8:1). В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения лимфангиолейомиоматоза у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, содержащей Nab-сиролимус. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения лимфангиолейомиоматоза у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества Nab-сиролимуса. В некоторых вариантах осуществления ингибитор











вариантах осуществления лекарственный препарат из группы лимусов вводят в дозе примерно  $75 \text{ мг/м}^2$ . В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат из группы лимусов вводят в дозе примерно  $56 \text{ мг/м}^2$ . В некоторых вариантах осуществления композиция наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов вводится еженедельно. В некоторых вариантах осуществления композицию наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов вводят два раза в три недели (например, на 1 и 8 сутки 21-суточного цикла). В некоторых вариантах осуществления композицию наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов вводят три раза в четыре недели (например, на 1, 8 и 15 сутки 28-суточного цикла). В некоторых вариантах осуществления композицию наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов вводят внутривенной инфузией в течение 30 мин.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ стабилизации ПЕКомы (например, предупреждения или задержки обострения заболевания) у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ стабилизации ПЕКомы (например, предупреждения или задержки обострения заболевания) у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ стабилизации ПЕКомы (например, предупреждения или задержки обострения заболевания) у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, где лекарственный препарат из группы лимусов в наночастицах связан (например, покрыт) с альбумином. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ стабилизации ПЕКомы (например, предупреждения или задержки обострения заболевания) у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, где наночастицы имеют средний размер частиц не более чем примерно 150 нм (например, не более чем примерно 120 нм). В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ стабилизации ПЕКомы (например, предупреждения или задержки обострения заболевания) у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, где наночастицы содержат лекарственный препарат из группы лимусов, связанный (например, покрытый) с альбумином и где наночастицы имеют средний размер частиц не более чем примерно 150 нм (например, не более чем примерно 120 нм). В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ стабилизации ПЕКомы (например, предупреждения или задержки обострения заболевания) у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие сиролimus и человеческий альбумин, где наночастицы содержат сиролimus, связанный (например, покрытый) с человеческим альбумином, где наночастицы имеют средний размер частиц не более чем примерно 150 нм (например, не более чем примерно 120 нм, например, примерно 100 нм), где массовое соотношение человеческого альбумина и сиролимуса в композиции равно примерно 9:1 или ниже (например, примерно 9:1 или примерно 8:1). В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ стабилизации ПЕКомы (например, предупреждения или задержки обострения заболевания) у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, содержащей Nab-сиролimus. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ стабилизации ПЕКомы (например, предупреждения или задержки обострения заболевания) у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества Nab-сиролимуса. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат из группы лимусов вводят в дозе примерно от 10 до примерно  $150 \text{ мг/м}^2$ , включая, например, примерно от 45 до примерно  $100 \text{ мг/м}^2$  и примерно от 75 до  $100 \text{ мг/м}^2$ . В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат из группы лимусов вводят в дозе примерно  $100 \text{ мг/м}^2$ . В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат из группы лимусов вводят в дозе примерно  $75 \text{ мг/м}^2$ . В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат из группы лимусов вводят в дозе примерно  $56 \text{ мг/м}^2$ . В некоторых вариантах осуществления композиция наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов вводится еженедельно. В некоторых вариантах осуществления композицию наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов вводят два раза в три недели (например, на 1 и 8 сутки 21-суточного цикла). В некоторых вариантах осуществления композицию наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов вводят три раза в четыре недели (например, на 1, 8 и 15 сутки 28-суточного цикла). В некоторых вариантах осуществления композицию наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов вводят внутривенной инфузией в течение 30 мин.

Способы, описанные здесь, пригодны для различных аспектов лечения ПЕКомы. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ ингибирования пролиферации периваскулярных эпителиоидных клеток (например, роста опухоли ПЕКомы) у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR и альбумин. В некоторых вариантах осуществления пролиферация клеток ингибируется по меньшей мере при-









чающей наночастицы, содержащие сиролimus и альбумин (например, наночастицы, содержащие сиролimus, покрытый альбумином, например Nab-сиролimus), где композицию вводят в дозе 75 мг/м<sup>2</sup> и где композицию вводят еженедельно, 3 раза в 4 недели (например, на 1, 8 и 15 сутки 28-суточного цикла). В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКомы у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие сиролimus и альбумин (например, наночастицы, содержащие сиролimus, покрытый альбумином, например Nab-сиролimus), где композицию вводят в дозе 75 мг/м<sup>2</sup>, где композицию вводят еженедельно, 3 раза в 4 недели (например, на 1, 8 и 15 сутки 28-суточного цикла) и где дозу вводят внутривенной инфузией в течение 30 мин.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКомы у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие сиролimus и альбумин (например, наночастицы, содержащие сиролimus, покрытый альбумином, например Nab-сиролimus), где композицию вводят в дозе 56 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКомы у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие сиролimus и альбумин (например, наночастицы, содержащие сиролimus, покрытый альбумином, например Nab-сиролimus), где композицию вводят в дозе 56 мг/м<sup>2</sup> и где композицию вводят еженедельно, 2 раза в 3 недели (например, на 1 и 8 сутки 21-суточного цикла). В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКомы у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие сиролimus и альбумин (например, наночастицы, содержащие сиролimus, покрытый альбумином, например Nab-сиролimus), где композицию вводят в дозе 56 мг/м<sup>2</sup>, где композицию вводят еженедельно, 2 раза в 3 недели (например, на 1 и 8 сутки 21-суточного цикла) и где дозу вводят внутривенной инфузией в течение 30 мин. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКомы у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие сиролimus и альбумин (например, наночастицы, содержащие сиролimus, покрытый альбумином, например Nab-сиролimus), где композицию вводят в дозе 56 мг/м<sup>2</sup> и где композицию вводят еженедельно, 3 раза в 4 недели (например, на 1, 8 и 15 сутки 28-суточного цикла). В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКомы у субъекта (например, человека), включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие сиролimus и альбумин (например, наночастицы, содержащие сиролimus, покрытый альбумином, например Nab-сиролimus), где композицию вводят в дозе 56 мг/м<sup>2</sup>, где композицию вводят еженедельно, 3 раза в 4 недели (например, на 1, 8 и 15 сутки 28-суточного цикла) и где дозу вводят внутривенной инфузией в течение 30 мин.

Также обеспечиваются фармацевтические композиции, содержащие наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus) для применения в любом из способов лечения ПЕКомы, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления композиции содержат наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus) и альбумин (такой как человеческий альбумин).

#### **Применение биомаркеров**

Настоящее изобретение в одном аспекте обеспечивает способы лечения эпителиоидноклеточной опухоли, такой как ПЕКома, основываясь на уровне экспрессии или активности, или мутационного статуса одного или более биомаркеров.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКомы (такой как злокачественная ПЕКома, например, метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где субъект отобран для лечения, основываясь на субъекте, имеющем мутационный статус в гене. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из анализа ONCOPANEL™ (сертифицированного CLIA). В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген пути mTOR. В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген mTOR-ассоциированного пути.

Как здесь используется, выражение "ген mTOR-ассоциированного пути" относится к гену, который кодирует молекулу, такую как белок, которая прямо или опосредованно взаимодействует в сигнальном пути mTOR или взаимодействует с ним. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из группы, состоящей из PIK3CA, TSC1, TSC2, AKT, PTEN, MTOR и RHEB. В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген TFE3. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием секвенирования бесклеточной ДНК. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием экзомного секвенирования. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием мутационного анализа биопсийного образца опухоли. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием флуоресцентной гибридизации *in situ*. В некоторых вариантах осуществления образец

представляет собой образец крови. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. В некоторых вариантах осуществления образец получен до начала проведения способов лечения, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления образец получен после начала проведения способов лечения, описанных здесь.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКомы (такой как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где субъект отобран для лечения, основываясь на субъекте, имеющем статус фосфорилирования белка, связанного с сигнальным путем mTOR. В некоторых вариантах осуществления белок выбран из группы, состоящей из AKT, S6, S6K, 4EBP1 и SPARC. В некоторых вариантах осуществления белок фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления белок фосфорилирован в сайте определенной аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления белок не фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления статус фосфорилирования идентифицируется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКомы (такой как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где субъект отобран для лечения, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера пролиферации. В некоторых вариантах осуществления маркер пролиферации представляет Ki-67. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера пролиферации измеряется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКомы (такой как злокачественная ПЕКома, например, метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) у субъекта, включающая введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где субъект отобран для лечения, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера апоптоза. В некоторых вариантах осуществления маркер апоптоза представляет PARP или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера апоптоза измеряется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКомы (такой как злокачественная ПЕКома, например, метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где наночастицы имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм и где субъект отобран для лечения, основываясь на субъекте, имеющем мутационный статус в гене. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из анализа ONCOPANEL™. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из гена пути mTOR. В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген mTOR-ассоциированного пути. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из группы, состоящей из PIK3CA, TSC1, TSC2, AKT, PTEN, MTOR и RHEB. В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген TFE3. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием секвенирования бесклеточной ДНК. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием экзомного секвенирования. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием мутационного анализа биопсийного образца опухоли. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием флуоресцентной гибридизации *in situ*. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец крови. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. В некоторых вариантах осуществления образец получен до начала проведения способов лечения, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления образец получен после начала проведения способов лечения, описанных здесь.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКомы (такой как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где наночастицы имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм, где субъект отобран для лечения, основываясь на субъекте, имеющем статус фосфорилирования белка, ассоциированного с сигнальным путем mTOR. В некоторых вариантах осуществления белок выбран из группы, состоящей из AKT, S6, S6K, 4EBP1 и SPARC. В некоторых вариантах осуществления белок фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления белок фосфорилирован в сайте определенной аминокислоты. В некоторых вариантах

осуществления белок не фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления статус фосфорилирования идентифицируется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКОмы (такой как злокачественная ПЕКОма, например, метастатическая или местно-распространенная ПЕКОма) у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где наночастицы имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм, где субъект отобран для лечения, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера пролиферации. В некоторых вариантах осуществления маркер пролиферации представляет Ki-67. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера пролиферации измеряется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКОмы (такой как злокачественная ПЕКОма, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКОма) у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где субъект отобран для лечения, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера апоптоза. В некоторых вариантах осуществления маркер апоптоза представляет PARP или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера апоптоза измеряется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКОмы (такой как злокачественная ПЕКОма, например, метастатическая или местно-распространенная ПЕКОма) у субъекта, включающий (а) оценку мутационного статуса в гене у субъекта и (b) введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где субъект отобран для лечения, основываясь на субъекте, имеющем мутационный статус в гене. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из анализа ONCOPANEL™. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из гена пути mTOR. В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген mTOR-ассоциированного пути. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из группы, состоящей из PIK3CA, TSC1, TSC2, AKT, PTEN, MTOR и RHEB. В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген TFE3. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием секвенирования бесклеточной ДНК. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием экзомного секвенирования. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием мутационного анализа биопсийного образца опухоли. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием флуоресцентной гибридизации in-situ. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец крови. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. В некоторых вариантах осуществления образец получен до начала проведения способов лечения, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления образец получен после начала проведения способов лечения, описанных здесь.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКОмы (такой как злокачественная ПЕКОма, например, метастатическая или местно-распространенная ПЕКОма) у субъекта, включающий (а) оценку статуса фосфорилирования белка у субъекта и (b) введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где субъект отобран для лечения, основываясь на субъекте, имеющем статус фосфорилирования белка, ассоциированного с сигнальным путем mTOR. В некоторых вариантах осуществления белок выбран из группы, состоящей из AKT, S6, S6K, 4EBP1 и SPARC. В некоторых вариантах осуществления белок фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления белок фосфорилирован в сайте определенной аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления белок не фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления статус фосфорилирования идентифицируется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКОмы (такой как злокачественная ПЕКОма, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКОма) у субъекта, включающий (а) оценку уровня экспрессии маркера пролиферации у субъекта и (b) введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где субъект отобран для лечения, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера пролиферации. В некоторых вариантах осуществления маркер пролиферации представляет Ki-67. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера пролиферации измеряется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. В некоторых

вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКома (такой как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) у субъекта, включающий (а) оценку уровня экспрессии маркера апоптоза у субъекта и (b) введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где субъект отобран для лечения, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера апоптоза. В некоторых вариантах осуществления маркер апоптоза представляет PАРР или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера апоптоза измеряется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКома (такой как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) у субъекта, включающий (а) оценку мутационного статуса в гене у субъекта; (b) отбор (например, идентификацию или рекомендацию) субъекта для лечения, основываясь на субъекте, имеющем мутационный статус в гене; и (с) введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из анализа ONCOPANEL™. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из гена пути mTOR. В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген mTOR-ассоциированного пути. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из группы, состоящей из PIK3CA, TSC1, TSC2, AKT, PTEN, MTOR и RHEB. В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген TFE3. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием секвенирования бесклеточной ДНК. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием экзоминого секвенирования. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием мутационного анализа биопсийного образца опухоли. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием флуоресцентной гибридизации in-situ. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец крови. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. В некоторых вариантах осуществления образец получен до начала проведения способов лечения, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления образец получен после начала проведения способов лечения, описанных здесь.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКома (такой как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) у субъекта, включающий (а) оценку статуса фосфорилирования белка у субъекта; (b) отбор (например, идентификацию или рекомендацию) субъекта для лечения, основываясь на субъекте, имеющем статус фосфорилирования белка; и (с) введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин. В некоторых вариантах осуществления белок выбран из группы, состоящей из AKT, S6, S6K, 4EBP1 и SPARC. В некоторых вариантах осуществления белок фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления белок не фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления статус фосфорилирования идентифицируется в образце от человека с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКома (такой как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) у субъекта, включающий (а) оценку уровня экспрессии маркера пролиферации у субъекта; (b) отбор (например, идентификацию или рекомендацию) субъекта для лечения, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера пролиферации; и (с) введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где субъект отобран для лечения, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера пролиферации. В некоторых вариантах осуществления маркер пролиферации представляет Ki-67. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера пролиферации измеряется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ лечения ПЕКома (такой как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) у субъекта, включающий (а) оценку уровня экспрессии маркера апоптоза у субъекта; (b) отбор (например, идентификацию или рекомендацию) субъекта для лечения, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера апоптоза; и (с) введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин. В некоторых вариантах осуществления маркер апоптоза представляет PАРР или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера апоптоза измеряется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ отбора (включая идентификацию или рекомендацию) субъекта, имеющего ПЕКому (такую как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) для лечения композицией, содержащей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где способ включает (a) оценку мутационного статуса в гене у субъекта и (b) отбор или рекомендацию субъекта для лечения, основываясь на субъекте, имеющем мутационный статус в гене. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из анализа ONCOPANEL™. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из гена пути mTOR. В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген mTOR-ассоциированного пути. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из группы, состоящей из PIK3CA, TSC1, TSC2, AKT, PTEN, MTOR и RHEB. В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген TFE3. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием секвенирования бесклеточной ДНК. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием экзомного секвенирования. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием мутационного анализа биопсийного образца опухоли. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием флуоресцентной гибридизации *in situ*. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец крови. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. В некоторых вариантах осуществления образец получен до начала проведения способов лечения, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления образец получен после начала проведения способов лечения, описанных здесь.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ отбора (включая идентификацию или рекомендацию) субъекта, имеющего ПЕКому (такую как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) для лечения композицией, содержащей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где способ включает (a) оценку статуса фосфолирования белка у субъекта и (b) отбор или рекомендацию субъекта для лечения, основываясь на субъекте, имеющем статус фосфолирования белка, ассоциированного с сигнальным путем mTOR. В некоторых вариантах осуществления белок выбран из группы, состоящей из AKT, S6, S6K, 4EBP1 и SPARC. В некоторых вариантах осуществления белок фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления белок фосфорилирован в сайте определенной аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления белок не фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления статус фосфорилирования идентифицируется в образце от человека с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ отбора (включая идентификацию или рекомендацию) субъекта, имеющего ПЕКому (такую как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) для лечения композицией, содержащей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где способ включает (a) оценку уровня экспрессии маркера пролиферации у субъекта и (b) отбор или рекомендацию субъекта для лечения, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера пролиферации. В некоторых вариантах осуществления маркер пролиферации представляет Ki-67. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера пролиферации измеряется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ отбора (включая идентификацию или рекомендацию) субъекта, имеющего ПЕКому (такую как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) для лечения композицией, содержащей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где способ включает (a) оценку уровня экспрессии маркера апоптоза у субъекта и (b) отбор (например, идентификацию или рекомендацию) субъекта для лечения, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера апоптоза. В некоторых вариантах осуществления маркер апоптоза представляет PARP или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера апоптоза измеряется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ отбора (включая идентификацию или рекомендацию) субъекта, имеющего ПЕКому (такую как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) для лечения композицией, содержащей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где способ включает (a) оценку мутационного статуса в гене у субъекта; (b) отбор или рекомендацию субъекта для лечения, основываясь на субъекте, имеющем мутационный статус в гене; и (c) введение эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, отобранному субъекту. В некоторых вариантах осуществления ген вы-

бран из анализа ONCOPANEL™. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из гена пути mTOR. В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген mTOR-ассоциированного пути. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из группы, состоящей из PIK3CA, TSC1, TSC2, AKT, PTEN, MTOR и RHEB. В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген TFE3. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием секвенирования бесклеточной ДНК. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием экзомного секвенирования. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием мутационного анализа биопсийного образца опухоли. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием флуоресцентной гибридизации *in situ*. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец крови. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. В некоторых вариантах осуществления образец получен до начала проведения способов лечения, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления образец получен после начала проведения способов лечения, описанных здесь.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ отбора (включая идентификацию или рекомендацию) субъекта, имеющего ПЕКОму (такую как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) для лечения композицией, содержащей ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где способ включает (а) оценку статуса фосфорилирования в белке у субъекта; (b) отбор или рекомендацию субъекта для лечения, основываясь на субъекте, имеющем статус фосфорилирования белка; и (с) введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, отобранному субъекту. В некоторых вариантах осуществления белок выбран из группы, состоящей из AKT, S6, S6K, 4EBP1 и SPARC. В некоторых вариантах осуществления белок фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления белок фосфорилирован в сайте определенной аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления белок не фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления статус фосфорилирования идентифицируется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли.

В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ отбора (включая идентификацию или рекомендацию) субъекта, имеющего ПЕКОму (такую как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) для лечения композицией, содержащей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где способ включает (а) оценку уровня экспрессии маркера пролиферации у субъекта; (b) отбор или рекомендацию субъекта для лечения, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера пролиферации; и (с) введение эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, отобранному субъекту. В некоторых вариантах осуществления маркер пролиферации представляет Ki-67. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера пролиферации измеряется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается способ отбора (включая идентификацию или рекомендацию) субъекта, имеющего ПЕКОму (такую как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) для лечения композицией, содержащей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, где способ включает (а) оценку уровня экспрессии маркера апоптоза у субъекта; (b) отбор или рекомендацию субъекта для лечения, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера апоптоза; и (с) введение эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин, отобранному субъекту. В некоторых вариантах осуществления маркер апоптоза представляет PARP или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера апоптоза измеряется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли.

Также обеспечиваются способы оценки того, насколько субъект с ПЕКОмой (такой как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) будет с большей вероятностью отвечать или будет с меньшей вероятностью отвечать на лечение, основываясь на субъекте, имеющем мутационный статус в гене, где лечение включает композицию, содержащую наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, и где способ включает оценку мутационного статуса гена у субъекта. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, субъекту, который, как установлено, будет отвечать на лечение. В некоторых вариантах осуществления наличие мутации в гене указывает на то, что субъект с большей вероятностью будет отвечать на лечение, и отсутствие мутации в гене указывает на то, что субъект с меньшей вероятностью бу-

дет отвечать на лечение. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из анализа ONCOPANEL™. В некоторых вариантах осуществления ген выбран из гена пути mTOR. В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген mTOR-ассоциированного пути.

В некоторых вариантах осуществления ген выбран из группы, состоящей из PIK3CA, TSC1, TSC2, AKT, PTEN, MTOR и RHEB. В некоторых вариантах осуществления ген представляет ген TFE3. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием секвенирования бесклеточной ДНК. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием экзомного секвенирования. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием мутационного анализа биопсийного образца опухоли. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус идентифицируется в образце от субъекта с использованием флуоресцентной гибридизации in-situ. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец крови. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. В некоторых вариантах осуществления образец получен до начала проведения способов лечения, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления образец получен после начала проведения способов лечения, описанных здесь.

Также обеспечиваются способы оценки того, насколько субъект с ПЕКомой (такой как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) будет с большей вероятностью отвечать или будет с меньшей вероятностью отвечать на лечение, основываясь на субъекте, имеющем статус фосфорилирования в белке, где лечение включает композицию, содержащую наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, и где способ включает оценку статуса фосфорилирования белка у субъекта. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, субъекту, который, как установлено, будет отвечать на лечение. В некоторых вариантах осуществления фосфорилированный белок указывает на то, что субъект будет с большей вероятностью отвечать на лечение. В некоторых вариантах осуществления нефосфорилированный белок указывает на то, что субъект будет с меньшей вероятностью отвечать на лечение.

Также обеспечиваются способы оценки того, насколько субъект с ПЕКомой (такой как злокачественная ПЕКома, например метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) будет с большей вероятностью отвечать или будет с меньшей вероятностью отвечать на лечение, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера пролиферации, где лечение включает композицию, содержащую наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, и где способ включает оценку уровня экспрессии маркера пролиферации у субъекта. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, субъекту, который, как установлено, будет отвечать на лечение. В некоторых вариантах уровень экспрессии маркера пролиферации указывает на то, что субъект с большей вероятностью будет отвечать на лечение. В некоторых вариантах осуществления маркер пролиферации представляет Ki-67. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера пролиферации измеряется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. Также обеспечиваются способы оценки того, насколько субъект с ПЕКомой (такой как злокачественная ПЕКома, например, метастатическая или местно-распространенная ПЕКома) будет с большей вероятностью отвечать или будет с меньшей вероятностью отвечать на лечение, основываясь на субъекте, имеющем уровень экспрессии маркера апоптоза, где лечение включает композицию, содержащую наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин и где способ включает оценку уровня экспрессии маркера апоптоза у субъекта. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин, субъекту, который, как установлено, будет отвечать на лечение. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера апоптоза указывает на то, что субъект будет с меньшей вероятностью отвечать на лечение. В некоторых вариантах осуществления маркер апоптоза представляет PARP или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии маркера апоптоза измеряется в образце от субъекта с использованием иммуногистохимии. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли.

Мутационный статус гена может быть оценен в образцах из различных источников. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец крови. В некоторых вариантах осуществления бесклеточная ДНК выделяется из образца крови. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. Мутационный статус гена может быть оценен с помощью различных методов, хорошо известных специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус гена оценивают, используя методы секвенирования бесклеточной ДНК. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус гена оценивают с использованием секвениро-

вания следующего поколения. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус гена, выделенного из образца крови, оценивают с использованием секвенирования следующего поколения. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус гена оценивают с использованием экзосомного секвенирования. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус гена оценивают с использованием флуоресцентного анализа гибридизации *in situ*. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус оценивают до начала проведения способов лечения, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус оценивают после начала проведения способов лечения, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления мутационный статус оценивают до и после начала проведения способов лечения, описанных здесь.

Статус фосфорилирования может быть оценен в образцах из различных источников. В некоторых вариантах осуществления образец представляет биопсийный образец опухоли. Статус фосфорилирования белка может быть оценен с помощью различных методов, хорошо известных специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления статус фосфорилирования оценивают, используя иммуногистохимию. Статус фосфорилирования белка может быть сайт-специфическим. Статус фосфорилирования можно сравнить с контрольным образцом. В некоторых вариантах осуществления статус фосфорилирования оценивают до начала проведения способов лечения, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления статус фосфорилирования оценивают после начала проведения способов лечения, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления статус фосфорилирования оценивают до и после начала проведения способов лечения, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления белок фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления белок не фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления сайт определенной аминокислоты фосфорилирован. В некоторых вариантах осуществления сайт определенной аминокислоты не фосфорилирован.

Уровень экспрессии белка (такого как маркер пролиферации или апоптоза) может быть высоким или низким уровнем по сравнению с контрольным образцом. В некоторых вариантах осуществления уровень белка у субъекта сравнивают с уровнем белка в контрольном образце. В некоторых вариантах осуществления уровень белка у субъекта сравнивают с уровнем белка в многочисленных контрольных образцах. В некоторых вариантах осуществления многочисленные контрольные образцы используют для получения статистики, которая применяется для классификации уровня белка у субъекта с ПЕКомой. Статус фосфорилирования белка можно сравнить с контрольным образцом. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии оценивают до начала проведения способов лечения, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии оценивают после начала проведения способов лечения, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии оценивают до и после начала проведения способов лечения, описанных здесь.

Классификацию или ранжирование уровня белка (например, высокого или низкого) можно провести относительно статистического распределения контрольных уровней. В некоторых вариантах осуществления классификацию или ранжирование проводят относительно контрольного образца, полученного от субъекта. В некотором варианте осуществления уровни белка классифицируются или ранжируются относительно статистического распределения контрольных уровней. В некоторых вариантах осуществления уровень белка классифицируется или ранжируется относительно уровня в контрольном образце, полученном от субъекта.

Контрольные образцы могут быть получены с использованием тех же источников и методов, что и образцы, отличные от контрольных образцов. В некоторых вариантах осуществления контрольный образец получают от другого субъекта (например, субъекта, не имеющего ПЕКому, и/или субъекта, имеющего аналогичную этническую, возрастную и тендерную идентичность). В некоторых вариантах осуществления, когда образец является образцом опухолевой ткани, контрольный образец может быть образцом незлокачественной ткани от того же субъекта. В некоторых вариантах осуществления многочисленные контрольные образцы (например, от разных субъектов) используют для определения диапазона уровней биомаркеров в определенной ткани, органе или клеточной популяции. В некоторых вариантах осуществления контрольный образец представляет собой культивированную ткань или клетку, которая была определена в качестве надлежащего контроля. В некоторых вариантах осуществления контроль представляет клетку, которая не экспрессирует биомаркер. В некоторых вариантах осуществления клинически приемлемый нормальный уровень в стандартизованном тесте используется в качестве контрольного уровня для определения уровня биомаркера. В некоторых вариантах осуществления референсный уровень биомаркера у субъекта классифицируется как высокий, средний или низкий в соответствии с системой оценки, такой как система оценки на основе иммуногистохимического анализа. В некоторых вариантах осуществления референсный уровень биомаркера у субъекта классифицируется как низкий уровень в образце, когда оценка ниже или равна общей средней оценке.

В некоторых вариантах осуществления уровень биомаркера определяется измерением уровня биомаркера у субъекта и сравнением с контрольным или референсным значением (например, средним уровнем для данной популяции пациентов или уровнем у второго субъекта). Например, если уровень биомаркера для данного субъекта определен как выше среднего уровня в популяции пациентов, то данный субъект, как установлено, имеет высокий уровень биомаркера. Альтернативно, если уровень биомаркера для

одного субъекта определяется как ниже среднего уровня в популяции пациентов, то данный субъект, как установлено, имеет низкий уровень биомаркера. В некоторых вариантах осуществления субъект сравнивается со вторым субъектом и/или популяцией пациентов, которые отвечают на лечение. В некоторых вариантах осуществления субъект сравнивается со вторым субъектом и/или популяцией пациентов, которые не отвечают на лечение. В любом из вариантов осуществления настоящего изобретения уровни могут быть определены путем измерения уровня нуклеиновой кислоты, кодирующей биомаркер. Например, если уровень мРНК, кодирующей биомаркер у одного субъекта, определен как выше среднего уровня в популяции пациентов, то данный субъект, как установлено, имеет высокий уровень мРНК, кодирующей биомаркер. Альтернативно, если уровень мРНК, кодирующей биомаркер у одного субъекта, определяется как ниже среднего уровня в популяции пациентов, то данный субъект, как установлено, имеет низкий уровень мРНК, кодирующей биомаркер.

В некоторых вариантах осуществления референсный уровень биомаркера определяется путем получения статистического распределения уровней биомаркера.

В некоторых вариантах осуществления способы биоинформатики используются для определения и классификации уровней биомаркера. Были разработаны многочисленные альтернативные подходы на основе биоинформатики для оценки профилей экспрессии гена с использованием данных по профилированию экспрессии генов. Способы включают, не ограничиваясь этим, описанные в публикациях Segal E. et al., *Nat. Genet.* 34:66-176 (2003); Segal E. et al., *Nat. Genet.* 36:1090-1098 (2004); Barry W.T. et al., *Bioinformatics*, 21:1943-1949 (2005); Tian L. et al., *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA*, 102:13544-13549 (2005); Novak B.A. and Jain A.N., *Bioinformatics*, 22:233-41 (2006); Maglietta R. et al., *Bioinformatics*, 23:2063-72 (2007); Bussemaker H.J., *BMC Bioinformatics*, 8 Suppl, 6:S6 (2007).

В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии белка определяют, например, иммуногистохимией. Например, критерии интерпретации низких или высоких уровней можно установить на основе числа положительно окрашенных клеток и/или интенсивности окрашивания, например, с использованием антитела, которое специфически распознает белок биомаркера. В некоторых вариантах осуществления уровень является низким, если менее примерно 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50% клеток имеют положительное окрашивание. В некоторых вариантах осуществления уровень является низким, если окрашивание на 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50% ниже интенсивности окрашивания положительного контроля.

В некоторых вариантах осуществления уровень является высоким, если более примерно 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 или 90% клеток имеют положительное окрашивание. В некоторых вариантах осуществления уровень является высоким, если окрашивание является таким же интенсивным, как и окрашивание положительного контроля. В некоторых вариантах осуществления уровень является высоким, если окрашивание на 80, 85 или 90% такое же интенсивное, как окрашивание положительного контроля.

В некоторых вариантах осуществления сильное окрашивание, среднее окрашивание и слабое окрашивание представляют откалиброванные уровни окрашивания, где устанавливается диапазон и интенсивность окрашивания в пределах диапазона. В некоторых вариантах осуществления сильное окрашивание представляет окрашивание выше 75 перцентиль диапазона интенсивности, среднее окрашивание представляет окрашивание от 25 до 75 перцентиль диапазона интенсивности, и низкое окрашивание представляет окрашивание ниже 25 перцентиль диапазона интенсивности. В некоторых аспектах специалист в данной области и специалист, знакомый с конкретной технологией окрашивания, корректирует бинарный размер и определяет категории окрашивания.

В некоторых вариантах осуществления биомаркер оценивают в образце крови. В некоторых вариантах осуществления биомаркер оценивают в образце бесклеточной ДНК. В некоторых вариантах осуществления биомаркер оценивается с использованием секвенирования следующего поколения. В некоторых вариантах осуществления биомаркер оценивают в биопсийном образце опухоли. В некоторых вариантах осуществления биомаркер оценивают с использованием иммуногистохимии.

Также здесь обеспечиваются способы направления на лечение ПЕКомы доставкой образца в диагностическую лабораторию для определения уровней биомаркеров; обеспечением контрольного образца с известным уровнем биомаркера; обеспечением антитела к биомаркеру; обеспечением связывания образца и контрольного образца с антителом и/или детектированием относительного уровня связывания антитела, где уровень в образце используется для предоставления заключения о том, что пациент должен получить лечение любым из способов, описанных здесь.

Также здесь обеспечиваются способы направления на лечение заболевания, дополнительно включающие экспертизу или анализ данных, касающихся присутствия (или уровня) биомаркера в образце; и предоставление заключения субъекту, например специалисту, обеспечивающему медицинское обслуживание, или руководителю учреждений здравоохранения, о вероятности или пригодности субъекта отвечать на лечение, где заключение основывается на экспертизе или анализе данных. В одном аспекте изобретения заключение представляет передачу данных в сети.

Анализ ONCOPANEL™ можно использовать для исследования экзонных последовательностей ДНК генов, ассоциированных с раком, и интронных областей для детектирования генетических аберра-

ций, включая соматические мутации, вариации числа копий и структурные перестройки в ДНК в образцах из различных источников (таких как биопсийный образец опухоли или образец крови), тем самым обеспечивая список кандидатов генетических aberrаций, которые могут представлять mTOR-активирующие aberrации. В некоторых вариантах осуществления aberrация mTOR-ассоциированного гена представляет собой генетическую aberrацию или aberrантный уровень (такой как уровень экспрессии или уровень активности) в гене, выбранном из анализа ONCOPANEL™. См., например, Wagle N. et al. *Cancer discovery*, 2.1 (2012): 82-93.

Типичная версия анализа ONCOPANEL™ включает 300 ассоциированных с раком генов и 113 интронов по 35 генам. 300 генов, включенных в типичный анализ ONCOPANEL™, представляют ABL1, AKT1, AKT2, AKT3, ALK, ALOX12B, APC, AR, ARAF, ARID1A, ARID1B, ARID2, ASXL1, ATM, ATRX, AURKA, AURKB, AXL, B2M, BAP1, BCL2, BCL2L1, BCL2L12, BCL6, BCOR, BCORL1, BLM, BMP1A, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRD4, BRIP1, BUB1B, CADM2, CARD11, CBL, CBLB, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CD274, CD58, CD79B, CDC73, CDH1, CDK1, CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK9, CDKN1A, CDKN1B, CDKN1C, CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, CEVPA, CHEK2, CIITA, CREBBP, CRKL, CRLF2, CRTCI, CRTCC, CSF1R, CSF3R, CTNBN1, CUX1, CYLD, DDB2, DDR2, DEPDC5, DICER1, DIS3, DMD, DNMT3A, EED, EGFR, EP300, EPHA3, EPHA5, EPHA7, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, ESR1, ETV1, ETV4, ETV5, ETV6, EWSR1, EXT1, EXT2, EZH2, FAM46C, FANCA, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FAS, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FH, FKBP9, FLCN, FLT1, FLT3, FLT4, FUS, GATA3, GATA4, GATA6, GLI1, GLI2, GLI3, GNA11, GNAQ, GNAS, GNB2L1, GPC3, GSTM5, H3F3A, HNF1A, HRAS, ID3, IDH1, IDH2, IGF1R, IKZF1, IKZF3, INSIG1, JAK2, JAK3, KCNIP1, KDM5C, KDM6A, KDM6B, KDR, KEAP1, KIT, KRAS, LINC00894, LMO1, LMO2, LMO3, MAP2K1, MAP2K4, MAP3K1, MAPK1, MCL1, MDM2, MDM4, MECOM, MEF2B, MEN1, MET, MITF, MLH1, MLL (KMT2A), MLL2 (KTM2D), MPL, MSH2, MSH6, MTOR, MUTYH, MYB, MYBL1, MYC, MYCL1 (MYCL), MYCN, MYD88, NBN, NEGR1, NF1, NF2, NFE2L2, NFKBIA, NFKBIZ, NKX2-1, NOTCH1, NOTCH2, NPM1, NPRL2, NPRL3, NRAS, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PALB2, PARK2, PAX5, PBRM1, PDCD1LG2, PDGFRA, PDGFRB, PHF6, PHOX2B, PIK3C2B, PIK3CA, PIK3R1, PIM1, PMS1, PMS2, PNRC1, PRAME, PRDM1, PRF1, PRKAR1A, PRKCI, PRKCZ, PRKDC, PRPF40B, PRPF8, PSMD13, PTCH1, PTEN, PTK2, PTPN11, PTPRD, QKI, RAD21, RAF1, RARA, RB1, RBL2, RECQL4, REL, RET, RFWD2, RHEB, RHPN2, ROS1, RPL26, RUNX1, SBDS, SDHA, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SETBP1, SETD2, SF1, SF3B1, SH2B3, SLITRK6, SMAD2, SMAD4, SMARCA4, SMARCB1, SMC1A, SMC3, SMO, SOCS1, SOX2, SOX9, SQSTM1, SRC, SRSF2, STAG1, STAG2, STAT3, STAT6, STK11, SUFU, SUZ12, SYK, TCF3, TCF7L1, TCF7L2, TERC, TERT, TET2, TLR4, TNFAIP3, TP53, TSC1, TSC2, U2AF1, VHL, WRN, WT1, XPA, XPC, XPO1, ZNF217, ZNF708, ZRSR2.

Интронные области, исследуемые в типичном анализе ONCOPANEL™, имеют место в конкретных интронах ABL1, AKT3, ALK, BCL2, BCL6, BRAF, CIITA, EGFR, ERG, ETV1, EWSR1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FUS, IGH, IGL, JAK2, MLL, MYC, NPM1, NTRK1, PAX5, PDGFRA, PDGFRB, PPARG, RAF1, RARA, RET, ROS1, SS18, TRA, TRB, TRG, TMPRSS2. mTOR-активирующие aberrации (такие как генетическая aberrация и aberrантные уровни) любого из генов, входящих в любой вариант осуществления или версию анализа ONCOPANEL™, включая, не ограничиваясь этим, гены и интронные области, перечисленные выше, рассматриваются в качестве основы для отбора субъекта для лечения композициями наночастиц ингибитора mTOR.

#### **Дозирование и способ введения композиций наночастиц**

Доза наночастиц mTOR (таких как композиции наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов), вводимых субъекту (например, человеку), может варьироваться в зависимости от конкретной композиции, способа введения и типа ПЕКомы, подвергающейся лечению. В некоторых вариантах осуществления количество композиции является эффективным для обеспечения объективного ответа (например, частичного ответа или полного ответа). В некоторых вариантах осуществления количество композиции наночастиц mTOR (например, композиции наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов) является достаточным для получения полного ответа у субъекта. В некоторых вариантах осуществления количество композиции наночастиц mTOR (например, композиции наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов) является достаточным для получения частичного ответа у субъекта. В некоторых вариантах осуществления количество композиции наночастиц mTOR (например, композиции наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов), вводимое (например, при самостоятельном введении), является достаточным для получения общего уровня ответа у более чем примерно 20, 30, 40, 50, 60 или 64% популяции субъектов, подвергшихся лечению композицией наночастиц mTOR (такой как композиция наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов). Ответы субъекта на лечение способами, описанными здесь, можно определить, например, на основе уровней RECIST, цистоскопии (с биопсией или без нее), биопсии, цитологии и компьютерной томографии.

В некоторых вариантах осуществления количество композиции наночастиц mTOR (например, композиции наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов) является достаточным для получения отрицательного результата в биопсии у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления количество композиции является достаточным для продления выживаемости субъекта без прогрессирования заболевания. В некоторых вариантах осуществления количество композиции является достаточным для продления общей выживаемости субъекта. В некоторых вариантах осуществления количество композиции (например, при самостоятельном введении) является достаточным для получения клинического эффекта у более чем 50, 60, 70 или 77% популяции субъектов, подвергшихся лечению композицией наночастиц mTOR (например, композицией наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов).

В некоторых вариантах осуществления количество композиции представляет количество, достаточное для уменьшения размера опухоли, уменьшения количества злокачественных клеток или снижения скорости роста опухоли, по меньшей мере, примерно на 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95 или 100% по сравнению с соответствующим размером опухоли или скоростью роста опухоли у одного и того же субъекта до лечения или по сравнению с соответствующей активностью у других субъектов, не получающих такое лечение. Для измерения величины этого эффекта можно использовать стандартные методы, такие как тесты *in vitro* с очищенным ферментом, клеточные тесты, животные модели или испытание у людей.

В некоторых вариантах осуществления количество ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) в композиции находится ниже уровня, который индуцирует токсический эффект (т.е. эффект выше клинически приемлемого уровня токсичности), или находится на уровне, когда потенциальный побочный эффект может контролироваться или переноситься, когда композиция вводится субъекту.

В некоторых вариантах осуществления количество композиции близко к максимальной переносимой дозе (МПД) композиции при введении в аналогичном режиме дозирования. В некоторых вариантах осуществления количество композиции составляет более чем примерно 80, 90, 95 или 98% от МПД.

В некоторых вариантах осуществления эффективные количества ингибитора mTOR (например, лекарственного препарата из группы лимусов) в композиции наночастиц включают, не ограничиваясь этим, по меньшей мере, любые количества из примерно 25, 30, 50, 60, 75, 80, 90, 100, 120, 160, 175, 180, 200, 210, 220, 250, 260, 300, 350, 400, 500, 540, 750, 1000 или 1080 мг/м<sup>2</sup> ингибитора mTOR (например, сиролимуса). В различных вариантах осуществления композиция включает любые количества ниже чем примерно 350, 300, 250, 200, 150, 120, 100, 90, 50 или 30 мг/м<sup>2</sup> ингибитора mTOR (например, сиролимуса). В некоторых вариантах осуществления количество ингибитора mTOR (например, сиролимуса) на одно введение составляет любое количество ниже чем примерно 25, 22, 20, 18, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 мг/м<sup>2</sup>.

В некоторых вариантах осуществления эффективное количество ингибитора mTOR (например, сиролимуса) в композиции входит в любой из следующих диапазонов: примерно от 1 до примерно 5 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 5 до примерно 10 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 10 до примерно 25 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 25 до примерно 50 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 50 до примерно 75 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 75 до примерно 100 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 100 до примерно 125 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 125 до примерно 150 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 150 до примерно 175 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 175 до примерно 200 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 200 до примерно 225 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 225 до примерно 250 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 250 до примерно 300 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 300 до примерно 350 мг/м<sup>2</sup> или примерно от 350 до примерно 400 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество ингибитора mTOR (например, сиролимуса) в композиции составляет примерно от 5 до примерно 300 мг/м<sup>2</sup>, например, примерно от 100 до примерно 150 мг/м<sup>2</sup>, примерно 120 мг/м<sup>2</sup>, примерно 130 мг/м<sup>2</sup> или примерно 140 мг/м<sup>2</sup>.

В некоторых вариантах осуществления любого из вышеописанных аспектов, эффективное количество ингибитора mTOR (например, сиролимуса) в композиции включает, по меньшей мере, любые количества из примерно 1, 2,5, 5, 7,5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 или 60 мг/кг. В различных вариантах осуществления эффективное количество ингибитора mTOR (например, сиролимуса) в композиции включает любые количества ниже чем примерно 350, 300, 250, 200, 150, 100, 50, 25, 20, 10, 7,5, 6,5, 5, 3,5, 2,5 или 1 мг/кг ингибитора mTOR (например, сиролимуса).

В некоторых вариантах осуществления кратность дозирования при введении композиций наночастиц включает, не ограничиваясь этим, один раз в сутки, один раз в две суток, один раз в трое суток, один раз в четверо суток, один раз в пять суток, один раз в шесть суток, один еженедельно без перерыва, три из четырех недель, один раз в три недели; один раз в две недели или две из трех недель. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят примерно один раз в 2 недели, один раз в 3 недели, один раз в 4 недели, один раз в 6 недель или один раз в 8 недель. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят по меньшей мере примерно 1x, 2x, 3x, 4x, 5x, 6x или 7x (т.е. ежедневно) в течение недели. В некоторых вариантах осуществления интервалы между каждым из введений составляют меньше чем примерно 6 месяцев, 3 месяца, 1 месяц, 20 суток, 15 суток, 12 суток, 10 суток, 9 суток, 8 суток, 7 суток, 6 суток, 5 суток, 4 суток, 3 суток, 2 суток или 1 сутки. В некоторых вариантах осуществления интервалы между каждым из введений составляют более чем примерно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 или 12 месяцев. В некоторых вариантах осуществления схема дозирования не прерывается. В некоторых вариантах осуществления интервал между каждым из введений составляет примерно не более недели.

В некоторых вариантах осуществления частота дозирования составляет один раз в двое суток один раз, два раза, три раза, четыре раза, пять раз, шесть раз, семь раз, восемь раз, девять раз, десять раз и одиннадцать раз. В некоторых вариантах осуществления частота дозирования составляет один раз в двое суток пять раз. В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR (например, сиролимус) вводят в течение, по меньшей мере, десяти суток, где интервал между каждым введением составляет не более двух суток и где доза ингибитора mTOR (например, сиролимуса) в каждом введении составляет примерно от 0,25 до примерно 250 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 0,25 до примерно 150 мг/м<sup>2</sup>, примерно от 0,25 до примерно 75 мг/м<sup>2</sup>, например, примерно от 0,25 до примерно 25 мг/м<sup>2</sup> или примерно от 25 до примерно 50 мг/м<sup>2</sup>.

Введение композиции может быть продлено до длительного периода времени, например, примерно от месяца до примерно семи лет. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят в течение периода по меньшей мере примерно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72 или 84 месяцев.

В некоторых вариантах осуществления доза ингибитора mTOR (например, сиролимуса) в композиции наночастиц может составлять 5-400 мг/м<sup>2</sup> при назначении по 3-недельной схеме или 5-250 мг/м<sup>2</sup> (например, 80-150 мг/м<sup>2</sup>, например 100-120 мг/м<sup>2</sup>) при назначении по недельной схеме. Например, количество ингибитора mTOR (например, сиролимуса) составляет примерно от 60 до 300 мг/м<sup>2</sup> (например, примерно 260 мг/м<sup>2</sup>) при назначении по 3-недельной схеме.

В некоторых вариантах осуществления примерные схемы дозирования при введении композиции наночастиц (например, композиции наночастиц сиролимуса/альбумина) включают, не ограничиваясь этим, 100 мг/м<sup>2</sup>, еженедельно, без перерыва; 100 мг/м<sup>2</sup>, еженедельно, 2 из 3 недель; 100 мг/м<sup>2</sup>, еженедельно, 3 из 4 недель; 75 мг/м<sup>2</sup>, еженедельно, без перерыва; 75 мг/м<sup>2</sup>, еженедельно, 2 из 3 недель; 75 мг/м<sup>2</sup>, еженедельно, 3 из 4 недель; 56 мг/м<sup>2</sup>, еженедельно, без перерыва; 56 мг/м<sup>2</sup>, еженедельно, 2 из 3 недель; 56 мг/м<sup>2</sup>, еженедельно, 3 из 4 недель. Частоту дозирования композиции можно корректировать в ходе лечения на основании решения лечащего врача.

В некоторых вариантах осуществления субъект подвергается лечению, по меньшей мере, в одном, двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти или десяти циклах лечения.

Композиции, описанные здесь, позволяют проводить инфузию композиции субъекту в течение времени инфузии, которое меньше, чем примерно 24 ч. Например, в некоторых вариантах осуществления композицию вводят в течение времени инфузии меньше чем 24, 12, 8, 5, 3, 2, 1 ч, 30, 20 или 10 мин. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят в течение времени инфузии, составляющем примерно 30 мин.

В некоторых вариантах осуществления примерная доза ингибитора mTOR (в некоторых вариантах осуществления лекарственного препарата из группы лимусов, например сиролимуса) в композиции наночастиц включает, не ограничиваясь этим, любую дозу из примерно 50, 60, 75, 80, 90, 100, 120, 160, 175, 200, 210, 220, 260 и 300 мг/м<sup>2</sup>. Например, доза ингибитора mTOR в композиции наночастиц может находиться в диапазоне примерно 100-400 мг/м<sup>2</sup> при назначении по 3-недельной схеме или примерно 50-250 мг/м<sup>2</sup> при назначении по недельной схеме.

Композицию наночастиц mTOR (такую как композиция наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов) можно вводить субъекту (например, человеку) различными путями, включая, например, внутривенный, внутриартериальный, внутривнутрибрюшинный, интрапупульмонарный, пероральный, ингаляционный, интравезикулярный, внутримышечный, внутритрахеальный, подкожный, внутриокулярный, интратекальный или чрескожный. В некоторых вариантах осуществления может использоваться препарат композиции с замедленным высвобождением. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят интравезикулярно. В некоторых вариантах осуществления композиция вводится внутриартериально. В некоторых вариантах осуществления композиция вводится внутривнутрибрюшинно.

В некоторых вариантах осуществления, когда композицию наночастиц лекарственного препарата из группы лимусов вводят интравезикулярно, в дозе ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) в композиции наночастиц, которая может находиться в диапазоне примерно от 30 до примерно 400 мг в объеме примерно от 20 до примерно 150 мл, например, то она удерживается в мочевом пузыре в течение примерно от 30 мин до примерно 4 ч. В некоторых вариантах осуществления композиция наночастиц удерживается в мочевом пузыре в течение примерно от 30 мин до примерно 4 ч, включая, например, примерно от 30 мин до примерно 1 ч, примерно от 1 до примерно 2 ч, примерно от 2 до примерно 3 ч или примерно от 3 до 4 ч.

В некоторых вариантах осуществления доза ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) составляет примерно от 100 до 400 мг, например, примерно 100 мг, примерно 200 мг, примерно 300 мг или примерно 400 мг. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат из группы лимусов вводят в дозе примерно 100 мг в неделю, примерно 200 мг в неделю, примерно 300 мг в неделю, примерно 100 мг два раза в неделю или примерно 200 мг два раза в неделю. В некоторых вариантах осуществления введение затем продолжают на месячной поддерживающей дозе (которая может быть такой же или отличаться от недельных доз).

В некоторых вариантах осуществления, когда композицию наночастиц лекарственного препарата из

группы лимусов вводят внутривенно, то доза ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) в композиции наночастиц может находиться в диапазоне примерно от 30 до примерно 400 мг. Композиции, описанные здесь, позволяют проводить инфузию композиции субъекту в течение времени инфузии меньше чем примерно 24 ч. Например, в некоторых вариантах осуществления композицию вводят в течение времени инфузии менее 24, 12, 8, 5, 3, 2, 1 ч, 30, 20 или 10 мин. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят в течение времени инфузии, составляющем примерно от 30 до примерно 40 мин.

#### **Композиции наночастиц**

Композиции наночастиц, описанные здесь, содержат наночастицы, содержащие (в различных вариантах осуществления, состоящие в основном из) ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус). Наночастицы могут дополнительно содержать альбумин (такой как человеческий сывороточный альбумин или человеческий альбумин). Наночастицы с плохо растворимыми в воде лекарственными препаратами были описаны, например, в патентах США № 5916596; 6506405; 6749868, 6537579, 7820788, а также в заявках на патент США № 2006/0263434 и 2007/0082838; заявке на патент PCT WO 08/134148, каждый из документов включен в качестве ссылки во всей его полноте.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит наночастицы со средним или медианным диаметром не более чем примерно 1000 нм, например, не более чем примерно (или менее примерно) 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 150, 120 и 100 нм. В некоторых вариантах осуществления средний или медианный диаметр наночастиц составляет не более чем примерно 150 нм (например, не более чем примерно 120 нм). В некоторых вариантах осуществления средний или медианный диаметр наночастиц составляет не более чем примерно 120 нм. В некоторых вариантах осуществления средний или медианный диаметр наночастиц составляет примерно от 10 до примерно 150 нм. В некоторых вариантах осуществления средний или медианный диаметр наночастиц составляет примерно от 40 до примерно 120 нм. В некоторых вариантах осуществления наночастицы стерилизуют посредством фильтрации.

В некоторых вариантах осуществления наночастицы в композиции, описанной здесь, имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм, включая, например, не более чем примерно 140, 130, 120, 110, 100, 90, 80, 70 или 60 нм. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, примерно 50% (например, по меньшей мере примерно 60, 70, 80, 90, 95 или 99%) наночастиц в композиции имеет диаметр не более чем примерно 150 нм, включая, например, не более чем примерно 140, 130, 120, 110, 100, 90, 80, 70 или 60 нм. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, примерно 50% (например, по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95 или 99%) наночастиц в композиции имеет диаметр в диапазоне примерно от 20 до примерно 150 нм, включая, например, примерно от 40 до примерно 120 нм.

В некоторых вариантах осуществления альбумин содержит сульфгидрильные группы, которые могут образовывать дисульфидные связи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере примерно 5% (включая, например, по меньшей мере примерно 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80 или 90%) альбумина в части наночастиц композиции поперечно сшито (например, поперечно сшито посредством одной или нескольких дисульфидных связей).

В некоторых вариантах осуществления наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус), связаны (например, покрыты) с альбумином (например, человеческим альбумином или человеческим сывороточным альбумином). В некоторых вариантах осуществления композиция содержит ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) как в форме наночастиц, так и не в форме наночастиц (например, в форме растворов или в форме растворимых комплексов альбумин/наночастицы), где по меньшей мере примерно 50, 60, 70, 80, 90, 95 или 99% ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) в композиции находится в форме наночастиц. В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) в наночастицах составляет более чем примерно 50, 60, 70, 80, 90, 95 или 99% от общей массы наночастиц. В некоторых вариантах осуществления наночастицы содержат неполимерный матрикс. В некоторых вариантах осуществления наночастицы содержат ядро из ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус), которое по существу не содержит полимерных материалов (таких как полимерный матрикс).

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит альбумин как в части наночастиц, так и не в части наночастиц композиции, где по меньшей мере примерно 50, 60, 70, 80, 90, 95 или 99% альбумина в композиции находится не в части наночастиц композиции.

В некоторых вариантах осуществления массовое соотношение альбумина (такого как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин) и ингибитора mTOR в композиции наночастиц составляет примерно 18:1 или ниже, например, примерно 15:1 или ниже, например, примерно 10:1 или ниже. В некоторых вариантах осуществления массовое соотношение альбумина (такого как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин) и ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) в композиции находится в диапазоне примерно от 1:1 до примерно 18:1, примерно от 2:1 до примерно 15:1, примерно от 3:1 до примерно 13:1, примерно

от 4:1 до примерно 12:1, примерно от 5:1 до примерно 10:1. В некоторых вариантах осуществления массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus) в части наночастиц композиции составляет примерно 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:9, 1:10, 1:15 или ниже. В некоторых вариантах осуществления массовое соотношение альбумина (такого как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин) и ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus) в композиции представляет любое из следующего: примерно от 1:1 до примерно 18:1, примерно от 1:1 до примерно 15:1, примерно от 1:1 до примерно 7:1, примерно от 1:1 до примерно 6:1, примерно от 1:1 до примерно 5:1, примерно от 1:1 до примерно 4:1, примерно от 1:1 до примерно 3:1, примерно от 1:1 до примерно 2:1, примерно от 1:1 до примерно 1:1.

В некоторых вариантах осуществления композиция наночастиц имеет одну или более вышеуказанных характеристик.

Наночастицы, описанные здесь, могут находиться в сухой композиции (такой как лиофилизированная композиция) или суспендированы в биосовместимой среде. Подходящие биосовместимые среды включают, не ограничиваясь этим, воду, забуференную водную среду, физиологический раствор, забуференный физиологический раствор, необязательно забуференные растворы аминокислот, необязательно забуференные растворы белков, необязательно забуференные растворы сахаров, необязательно забуференные растворы витаминов, необязательно забуференные растворы синтетических полимеров, липидсодержащие эмульсии и тому подобное.

Человеческий сывороточный альбумин (HSA) представляет собой высокорастворимый глобулярный белок  $M_r$  65K и состоит из 585 аминокислот. HSA является самым распространенным белком в плазме и создает 70-80% коллоидного осмотического давления плазмы человека. Аминокислотная последовательность HSA содержит в общей сложности 17 дисульфидных мостиков, один свободный тиол (Cys 34) и один триптофан (Trp 214). Внутривенное применение раствора HSA показано для профилактики и лечения гиповолемического шока (см., например, Tullis, JAMA, 237:355-360, 460-463, (1977)) и Houser et al., Surgery, Gynecology and Obstetrics, 150:811-816 (1980)) и в сочетании с обменной трансфузией для лечения гипербилирубинемии новорожденных (см., например, Finlayson, Seminars in Thrombosis and Hemostasis, 6, 85-120, (1980)). Предусматриваются другие альбумины, такие как бычий сывороточный альбумин. Применение таких альбуминов, отличных от человеческого, может быть подходящим, например, в контексте использования этих композиций у млекопитающих, отличных от человека, таких как объекты ветеринарии (включая домашних животных и сельскохозяйственных животных). Человеческий сывороточный альбумин (HSA) имеет многочисленные сайты гидрофобного связывания (в общей сложности восемь для жирных кислот, эндогенных лигандов HSA) и связывает ряд различных лекарственных препаратов, особенно нейтральных и отрицательно заряженных гидрофобных соединений (Goodman et al., The Pharmacological Basis Therapeutics, 9<sup>th</sup> ed., McGraw-Hill New York (1996)). Было предположено наличие в субдоменах IIА и IIIА HSA двух сайтов с высокой аффинностью связывания, которые представляют собой сильно вытянутые гидрофобные "карманы" с заряженными остатками лизина и аргинина около поверхности, которые функционируют в качестве точек присоединения полярных лигандов (см., например, Fehske et al., Biochem. Pharmacol., 30, 687-92 (198a), Vorum, Dan. Med. Bull., 46, 379-99 (1999), Kragh-Hansen, Dan. Med. Bull., 1441, 131-40 (1990), Curry et al., Nat. Struct. Biol., 5, 827-35 (1998), Sugio et al., Protein. Eng., 12, 439-46 (1999), He et al., Nature, 358, 209-15 (199b) и Carter et al., Adv. Protein. Chem., 45, 153-203 (1994)). Было показано, что сиролimus и пропифол связываются с HSA (см., например, Paal et al., Eur. J. Biochem., 268(7), 2187-91 (200a), Purcell et al., Biochim. Biophys. Acta, 1478(a), 61-8 (2000), Altmayer et al., Arzneimittelforschung, 45, 1053-6 (1995) и Garrido et al., Rev. Esp. Anestesiología y Reanim., 41, 308-12 (1994)). Кроме того, было показано, что доцетаксел связывается с белками плазмы крови человека (см., например, Urien et al., Invest. New Drugs, 14(b), 147-51 (1996)).

Альбумин (например, человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин) в композиции, в общем, служит в качестве носителя ингибитора mTOR, т.е. альбумин в композиции делает ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus) более легко суспендируемым в водной среде или стабилизирует суспензию по сравнению с композициями, не содержащими альбумин. Это помогает избежать применения токсичных растворителей (или поверхностно-активных веществ) для солюбилизации ингибитора mTOR и тем самым может уменьшить один или более побочных эффектов введения ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus), субъекту (такому как человек). Таким образом, в некоторых вариантах осуществления композиция, описанная здесь, по существу не содержит (например, не содержит) поверхностно-активных веществ, таких как кремофор (или полиоксиэтилированное касторовое масло, включая Cremophor EL® (BASF)). В некоторых вариантах осуществления композиция наночастиц по существу не содержит (например, не содержит) поверхностно-активных веществ. Композиция "по существу не содержит кремофора" или "по существу не содержит поверхностно-активного вещества", если количество кремофора или поверхностно-активного вещества в композиции недостаточно для того, чтобы вызвать один или более побочных эффектов у субъекта, когда композицию наночастиц вводят субъекту. В некоторых вариантах осуществления композиция наночастиц содержит менее чем примерно 20, 15, 10, 7,5, 5,

2,5 или 1% органического растворителя или поверхностно-активного вещества. В некоторых вариантах осуществления альбумин представляет собой человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин. В некоторых вариантах осуществления альбумин представляет собой рекомбинантный альбумин.

Количество альбумина в композиции, описанной здесь, будет варьироваться в зависимости от состава других компонентов в композиции. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит альбумин в количестве, достаточном для стабилизации ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) в водной суспензии, например, в форме стабильной коллоидной суспензии (такой как стабильная суспензия наночастиц). В некоторых вариантах осуществления альбумин находится в количестве, которое снижает скорость осаждения ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) в водной среде. Для композиций, содержащих частицы, количество альбумина также зависит от размера и плотности наночастиц ингибитора mTOR.

Ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) "стабилизирован" в водной суспензии, если он остается суспендированным в водной среде (например, без видимой преципитации или осаждения) в течение длительного периода времени, такого как по меньшей мере примерно 0,1, 0,2, 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 48, 60 или 72 ч. Суспензия обычно, но не обязательно, подходит для введения субъекту (например, человеку). Стабильность суспензии обычно (но не обязательно) оценивается при температуре хранения (такой как комнатная температура (например, 20-25°C) или в условиях охлаждения (например, 4°C)). Например, суспензия стабильна при температуре хранения, если она не проявляет флоккуляции или агрегации частиц, видимой невооруженным глазом или видимой под оптическим микроскопом с увеличением в 1000 раз, в течение примерно 15 мин после приготовления суспензии. Стабильность также может быть оценена в условиях ускоренного "старения", например, при температуре выше 40°C.

В некоторых вариантах осуществления альбумин присутствует в количестве, достаточном для стабилизации ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) в водной суспензии при определенной концентрации. Например, концентрация ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) в композиции составляет примерно от 0,1 до примерно 100 мг/мл, включая, например, примерно от 0,1 до примерно 50 мг/мл, примерно от 0,1 до примерно 20 мг/мл, примерно от 1 до примерно 10 мг/мл, примерно от 2 до примерно 8 мг/мл, примерно от 4 до примерно 6 мг/мл или примерно 5 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) составляет по меньшей мере примерно 1,3, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40 и 50 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления альбумин присутствует в количестве, которое позволяет избежать применения поверхностно-активных веществ (таких как кремофор), таким образом, композиция не содержит или по существу не содержит поверхностно-активного вещества (такого как кремофор).

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

В некоторых вариантах осуществления массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) в композиции наночастиц таково, что достаточное количество ингибитора mTOR связывается с клеткой или переносится в клетку. Несмотря на то, что массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR должно быть оптимизировано для различных комбинаций альбуминов и ингибитора mTOR, как правило, массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимус) составляет примерно от 0,01:1 до примерно 100:1, примерно от 0,02:1 до примерно 50:1, примерно от 0,05:1 до примерно 20:1, примерно от 0,1:1 до примерно 20:1, примерно от 1:1 до примерно 18:1, примерно от 2:1 до примерно 15:1, примерно от 3:1 до примерно 12:1, примерно от 4:1 до примерно 10:1, примерно от 5:1 до примерно 9:1 или примерно 9:1. В некоторых вариантах осуществления массовое соотношение альбумина и mTOR-ингибитора составляет примерно 18:1 или ниже, 15:1 или ниже, 14:1 или ниже, 13:1 или ниже, 12:1 или ниже, 11:1 или ниже, 10:1 или ниже, 9:1 или ниже, 8:1 или ниже, 7:1 или ниже, 6:1 или ниже, 5:1 или ниже, 4:1 или ниже и 3:1 или ниже. В некоторых вариантах осуществления массовое соотношение альбумина (такого как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин) и ингибитора mTOR в композиции представляет любое из следующего: примерно от 1:1 до примерно 18:1, примерно от 1:1 до примерно 15:1, примерно от 1:1 до примерно 12:1, примерно от 1:1 до примерно 10:1, примерно от 1:1 до примерно 9:1, примерно от 1:1 до примерно 8:1, примерно от 1:1 до примерно 7:1, примерно от 1:1 до примерно 6:1, примерно от 1:1 до примерно 5:1, примерно от 1:1 до примерно 4:1, примерно от 1:1 до примерно 3:1, примерно от 1:1 до примерно 2:1, примерно от 1:1 до примерно 1:1.

В некоторых вариантах осуществления альбумин позволяет вводить композицию субъекту (например, человеку) без проявления значительных побочных эффектов. В некоторых вариантах осуществления альбумин (такой как человеческий сывороточный альбумин или человеческий альбумин) находится в количестве, которое эффективно для снижения одного или более побочных эффектов введения ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus) человеку.

Термин "снижение одного или более побочных эффектов" введения ингибитора mTOR (такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus) относится к снижению, облегчению, элиминации или предупреждению одного или более нежелательных эффектов, вызванных ингибитором mTOR, а также побочных эффектов, вызванных растворителями для доставки (такими как растворители, которые делают лекарственные препараты из группы лимусов пригодными для инъекций), используемыми для доставки ингибитора mTOR. Такие побочные эффекты включают, например, миелосупрессию, нейротоксичность, гиперчувствительность, воспаление, венозный дерматит, флебит, боль, раздражение кожи, периферическую нейропатию, нейтропеническую лихорадку, анафилактическую реакцию, тромбоз вен, экстравазацию и их комбинации. Однако указанные побочные эффекты являются чисто иллюстративными, и могут быть снижены другие побочные эффекты или комбинация побочных эффектов, связанные с лекарственными препаратами из группы лимусов, такими как сиролimus.

В некоторых вариантах осуществления композиции наночастиц, описанные здесь, содержат наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus) и альбумин (такой как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм. В некоторых вариантах осуществления композиции наночастиц, описанные здесь, содержат наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus) и альбумин (такой как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм. В некоторых вариантах осуществления композиции наночастиц, описанные здесь, содержат наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus) и альбумин (такой как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм (например, примерно 100 нм). В некоторых вариантах осуществления композиции наночастиц, описанные здесь, содержат наночастицы, содержащие сиролimus и человеческий альбумин (такой как человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм (например, примерно 100 нм).

В некоторых вариантах осуществления композиции наночастиц, описанные здесь, содержат наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus) и альбумин (такой как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм, где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем примерно 9:1 (например, примерно 9:1 или примерно 8:1). В некоторых вариантах осуществления композиции наночастиц, описанные здесь, содержат наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus) и альбумин (такой как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм, где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем примерно 9:1 (например, примерно 9:1 или примерно 8:1). В некоторых вариантах осуществления композиции наночастиц, описанные здесь, содержат наночастицы, содержащие сиролimus и человеческий альбумин (такой как человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм (например, примерно 100 нм), где массовое соотношение альбумина и сиролимуса в композиции составляет примерно 9:1 или примерно 8:1.

В некоторых вариантах осуществления композиции наночастиц, описанные здесь, содержат наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus), связанный (например, покрытый) с альбумином (таким как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин). В некоторых вариантах осуществления композиции наночастиц, описанные здесь, содержат наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus), связанный (например, с покрытый) с альбумином (таким как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм. В некоторых вариантах осуществления композиции наночастиц, описанные здесь, содержат наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus), связанный (например, покрытый) с альбумином (таким как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы



ванный альбумином (таким как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм, где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем примерно 9:1 (например, примерно 9:1 или примерно 8:1). В некоторых вариантах осуществления композиции наночастиц, описанные здесь, содержат наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus), стабилизированный альбумином (таким как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм, где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем примерно 9:1 (например, примерно 9:1 или примерно 8:1). В некоторых вариантах осуществления композиции наночастиц, описанные здесь, содержат наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus), стабилизированный альбумином (таким как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр примерно 150 нм, где массовое соотношение альбумина и ингибитора mTOR в композиции составляет не более чем примерно 9:1 (например, примерно 9:1 или примерно 8:1). В некоторых вариантах осуществления композиции наночастиц, описанные здесь, содержат наночастицы, содержащие сиролimus, стабилизированный альбумином (таким как человеческий альбумин или человеческий сывороточный альбумин), где наночастицы имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм (например, примерно 100 нм), где массовое соотношение альбумина и сиролимуса в композиции составляет примерно 9:1 или примерно 8:1.

В некоторых вариантах осуществления композиция наночастиц содержит Nab-сиролimus. В некоторых вариантах осуществления композиция наночастиц представляет Nab-сиролimus. Nab-сиролimus представляет препарат сиролимуса, стабилизированный человеческим альбумином USP, который может быть диспергирован непосредственно в инъекционном физиологическом растворе. Массовое соотношение человеческого альбумина и сиролимуса составляет от 8:1 до 9:1. При диспергировании в подходящей водной среде, такой как 0,9% инъекционный раствор хлорида натрия или 5% инъекционный раствор декстрозы, Nab-сиролimus образует стабильную коллоидную суспензию сиролимуса. Наночастицы имеют средний размер частиц в коллоидной суспензии примерно 100 нм. Поскольку HSA хорошо растворим в воде, то Nab-сиролimus может быть восстановлен в широком диапазоне концентраций от разбавленного (0,1 мг сиролимуса/мл) до концентрированного (20 мг сиролимуса/мл), включая, например, примерно от 2 мг/мл до примерно 8 мг/мл или примерно 5 мг/мл.

Способы получения композиций наночастиц известны в данной области техники. Например, наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus) и альбумин (такой как человеческий сывороточный альбумин или человеческий альбумин), могут быть получены в условиях высокой силы сдвига (например, ультразвуковой обработкой, гомогенизацией высокого давления или т.п.). Эти способы раскрыты, например, в патентах США № 5916596; 6506405; 6749868, 6537579 и 7820788, а также в заявках на патент США № 2007/0082838, 2006/0263434, и заявке на патент PCT WO 08/137148.

Вкратце, ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролimus) растворяют в органическом растворителе и раствор добавляют к раствору альбумина. Смесь подвергают гомогенизации под высоким давлением. Затем органический растворитель можно удалить выпариванием. Полученную дисперсию можно дополнительно лиофилизовать. Подходящий органический растворитель включает, например, кетоны, сложные эфиры, простые эфиры, хлорсодержащие растворители и другие растворители, известные в данной области. Например, органический растворитель может представлять метилхлорид или смесь хлороформ/этанол (например, с соотношением 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1 или 9:1).

### **Ингибитор mTOR**

Способы, описанные здесь в некоторых вариантах осуществления, включают введение композиций наночастиц ингибиторов mTOR. Как здесь используется, "ингибитор mTOR", относится к ингибитору mTOR. mTOR представляет собой серин/треонин-специфическую протеинкиназу, даунстрим пути фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K)/Akt (протеинкиназы B), и является ключевым регулятором выживаемости, пролиферации, стресса и метаболизма клеток. Нарушение регуляции путей mTOR было обнаружено во многих карциномах человека, и ингибирование mTOR оказывало значительное подавляющее действие на прогрессирование опухолей. В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR представляет собой ингибитор киназы mTOR.

Мишень рапамицина у млекопитающего (mTOR) (также известная как механистическая мишень рапамицина или FK-506-связывающий белок 12-ассоциированный с рапамицином белок 1 (FRAP1)) представляет атипичную серин/треониновую протеинкиназу, которая находится в двух различных комплексах, комплексе 1 mTOR (mTORC1) и комплексе 2 mTOR (mTORC2). mTORC1 состоит из mTOR, регуляторного ассоциированного белка mTOR (Raptor), млекопитающего, летального с белком SEC13 8 (MLST8), PRAS40 и DEPTOR (Kim et al., 2002). Cell, 110:163-75, Fang et al. (2001). Science, 294 (5548): 1942-5). mTORC1 объединяет четыре основных входных сигнала: питательные вещества (такие как аминокислоты и фосфатидная кислота), факторы роста (инсулин), энергию и стресс (например, гипоксия и

повреждение ДНК). Доступность аминокислот сигнализируется mTORC1 посредством пути, включающего сигналы факторов роста Rag и Ragulator (LAMTOR1-3) и гормонов (например, инсулина) к mTORC1 через Akt, который инактивирует TSC2 для предотвращения ингибирования mTORC1. Альтернативно, низкие уровни АТФ приводят к АМФК-зависимой активации TSC2 и фосфорилированию Rap-1 с снижением сигнальных белков mTORC1.

Активный mTORC1 имеет ряд даунстрим биологических эффектов, включая трансляцию мРНК через фосфорилирование даунстрим мишеней (4E-BP1 и p70 S6-киназа), подавление аутофагии (Atg13, ULK1), биогенез рибосом и активацию транскрипции, приводящую к метаболизму митохондрий или адипогенезу. Соответственно, активность mTORC1 способствует либо клеточному росту, когда условия благоприятны, либо катаболическим процессам во время стресса, или когда условия являются неблагоприятными.

mTORC2 состоит из mTOR, рапамицин-нечувствительного партнера mTOR (RICTOR), GβL и белка 1, взаимодействующего со стресс-активируемой протеинкиназой (mSIN1). В отличие от mTORC1, для которого были определены многие апстрим сигналы и клеточные функции (см. выше), относительно мало известно о биологии mTORC2. mTORC2 регулирует цитоскелетную организацию посредством стимуляции F-актиновых стрессовых волокон, паксиллина, RhoA, Rac1, Cdc42 и протеинкиназы Ca (PKCa). Было отмечено, что нокдаун компонентов mTORC2 влияет на полимеризацию актина и нарушает морфологию клеток (Jacinto et al., 2004). *Nat. Cell Biol.*, 6, 1122-1128, Sarbassov et al. (2004). *Curr. Biol.*, 14, 1296-1302). На основании этого можно предположить, что mTORC2 контролирует актиновый цитоскелет путем стимуляции фосфорилирования протеинкиназы Ca (PKCa), фосфорилирования паксиллина и его релокализации к фокальным адгезиям, и нагрузки GTP RhoA и Rac1. Молекулярный механизм, посредством которого mTORC2 регулирует эти процессы, не определен.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR является ингибитором mTORC1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR является ингибитором mTORC2.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR представляет лекарственный препарат из группы лимусов, который включает сиролимус и его аналоги. Примерами лекарственных препаратов из группы лимусов являются, без ограничения, темсиролимус (CCI-779), эверолимус (RAD001), рифафоролимус (AP-23573), дефоролимус (MK-8669), зотаролимус (ABT-578), пимекролимус и такролимус (FK-506). В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат из группы лимусов выбран из группы, состоящей из темсиролимуса (CCI-779), эверолимуса (RAD001), рифафоролимуса (AP-23573), дефоролимуса (MK-8669), зотаролимуса (ABT-578), пимекролимуса и такролимуса (FK-506).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR представляет сиролимус. Сиролимус является макролидным антибиотиком, который образует комплекс с FKBP-12 и ингибирует путь mTOR посредством связывания mTORC1.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор mTOR выбран из группы, состоящей из сиролимуса (рапамицина), BEZ235 (NVP-BEZ235), эверолимуса (также известного как RAD001, Зортгресс, Сертикан и Афинитор), AZD8055, темсиролимуса (также известного как CCI-779 и Торизел), PI-103, KU-0063794, INK 128, AZD2014, NVP-BGT226, PF-04691502, CH5132799, GDC-0980 (RG7422), Торина 1, WAY-600, WYE-125132, WYE -687, GSK2126458, PF-05212384 (PKI-587), PP-121, OSI-027, Паломид 529, PP242, XL765, GSK1059615, WYE-354 и эфоролимуса (также известного как рифафоролимус или дефоролимус).

BEZ235 (NVP-BEZ235) представляет производное имидазохилолина, которое является каталитическим ингибитором mTORC1 (Roper J. et al., *PLoS One*, 2011, 6 (9), e25132). Эверолимус является 40-O-(2-гидроксиэтил)-производным рапамицина и связывает циклофилин FKBP-12, и также образует комплекс с mTORC1. AZD8055 представляет небольшую молекулу, которая ингибирует фосфорилирование mTORC1 (p70S6K и 4E-BP1). Темсиролимус представляет небольшую молекулу, которая образует комплекс с FK506-связывающим белком и отменяет активацию mTOR, когда она находится в комплексе mTORC1. PI-103 представляет небольшую молекулу, которая ингибирует активацию чувствительного к рапамицину комплекса (mTORC1) (Knight et al., 2006), 125:733-47). KU-0063794 представляет небольшую молекулу, которая ингибирует фосфорилирование mTORC1 в Ser2448 дозозависимым и зависящим от времени образом. Каждый из INK 128, AZD2014, NVP-BGT226, CH5132799, WYE-687 представляет низкомолекулярный ингибитор mTORC1. PF-04691502 ингибирует активность mTORC1. GDC-0980 представляет небольшую молекулу с биодоступностью при пероральном введении, которая ингибирует киназу класса I PI3 и TORC1. Торин 1 является эффективным низкомолекулярным ингибитором mTOR. WAY-600 является эффективным, АТФ-конкурентным и селективным ингибитором mTOR. WYE-125132 представляет АТФ-конкурентный низкомолекулярный ингибитор mTORC1. GSK2126458 является ингибитором mTORC1. PKI-587 является высокоэффективным двойным ингибитором PI3Kα, mTOR αγ и mTOR. PP-121 представляет мультимишеневый ингибитор PDGFR, Hck, mTOR, VEGFR2, Src и Abl. OSI-027 является селективным и эффективным двойным ингибитором mTORC1 и mTORC2 со значением IC<sub>50</sub> 22 и 65 нМ соответственно. Паломид 529 представляет собой низкомолекулярный ингибитор mTORC1, который не обладает аффинностью к ABCB1/ABCG2 и обладает хорошим проникновением в

мозг (Lin et al. (2013)? Int. J. Cancer, DOI: 10.1002/ijc.28126 (е-опубликованный журнал до выхода в печать). PP242 является селективным ингибитором mTOR. XL765 представляет двойной ингибитор mTOR/PI3k для mTOR, p110 $\alpha$ , p110 $\beta$ , p110 $\gamma$  и p110 $\delta$ . GSK1059615 представляет собой новый и двойной ингибитор PI3K $\alpha$ , PI3K $\beta$ , PI3K $\delta$ , PI3K $\gamma$  и mTOR. WYE-354 ингибирует mTORC1 в клетках HEK293 (0,2-5 мкМ) и в клетках HUVEC (10 нМ-1 мкМ). WYE-354 является эффективным, специфичным и АТФ-конкурентным ингибитором mTOR. Дефоролимус (ридафоролимус, AP23573, МК-8669) является селективным ингибитором mTOR.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы mTOR выбран из группы, состоящей из CC-115 и CC-223.

#### **Другие компоненты в композициях наночастиц**

Наночастицы, описанные здесь, могут присутствовать в композиции, которая включает другие агенты, эксципиенты или стабилизаторы. Например, для повышения стабильности, путем увеличения отрицательного дзета-потенциала наночастиц, могут быть добавлены некоторые отрицательно заряженные компоненты. Такие отрицательно заряженные компоненты включают, не ограничиваясь этим, соли желчных кислот и желчные кислоты, состоящие из гликохолевой кислоты, холевой кислоты, хенодезоксихолевой кислоты, таурохолевой кислоты, гликохенодезоксихолевой кислоты, таурохенодезоксихолевой кислоты, литохолевой кислоты, урсодезоксихолевой кислоты, дегидрохолевой кислоты и др.; фосфолипиды, включая фосфолипиды на основе лецитина (яичного желтка), которые включают следующие фосфатидилхолины: пальмитоилолеоилфосфатидилхолин, пальмитоилинолеоилфосфатидилхолин, стеарилолинолеоилфосфатидилхолин, стеарилолеоилфосфатидилхолин, стеариоларахидоилфосфатидилхолин и дипальмитоилфосфатидилхолин. Другие фосфолипиды включают L-димиристоилфосфатидилхолин (DMPC), диолеоилфосфатидилхолин (DOPC), дистеарилоилфосфатидилхолин (DSPC), фосфатидилхолин гидрогенизованной соли (HSPC) и другие родственные соединения. Отрицательно заряженные поверхностно-активные вещества или эмульгаторы также пригодны в качестве добавок, например, холестерилсульфат натрия и тому подобного.

В некоторых вариантах осуществления композиция подходит для введения человеку. В некоторых вариантах осуществления композиция подходит для введения млекопитающему, например, объектам ветеринарии, домашним животным и сельскохозяйственным животным. Существует широкий ряд подходящих препаратов на основе композиции наночастиц (см., например, патенты США № 5916596 и 6096331). Следующие препараты и методы являются чисто иллюстративными и никоим образом не ограничивающими. Препараты, пригодные для перорального введения, включают (а) жидкие растворы, такие как эффективное количество соединения, растворенное в разбавителях, таких как вода, физиологический раствор или апельсиновый сок, (b) капсулы, пакетики или таблетки, каждая из которых содержит заранее определенное количество активного ингредиента в виде твердых веществ или гранул, (c) суспензии в соответствующей жидкости и (d) подходящие эмульсии. Таблетки могут включать одно или более из лактозы, маннита, кукурузного крахмала, картофельного крахмала, микрокристаллической целлюлозы, аравийской камеди, желатина, коллоидного диоксида кремния, кроскармеллозы натрия, талька, стеарата магния, стеариновой кислоты и других эксципиентов, красителей, разбавителей, буферных агентов, увлажняющих агентов, консервантов, ароматизирующих агентов и фармакологически совместимых эксципиентов. Пастилки могут включать активный ингредиент во вкусовом веществе, обычно сахарозе и аравийской камеди или трагаканте, а также находиться в виде пастилок, содержащих активный ингредиент в инертной основе, такой как желатин и глицерин, или сахароза и аравийская камедь, эмульсии, гели и т.п., содержащих, в дополнение к активному ингредиенту, эксципиенты, которые известны в данной области.

Примеры подходящих носителей, эксципиентов и разбавителей включают, не ограничиваясь этим, лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, аравийскую камедь, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, солевой раствор, сироп, метилцеллюлозу, метил- и пропилгидроксibenзоаты, тальк, стеарат магния и минеральное масло. Препараты могут дополнительно включать смазывающие агенты, смачивающие агенты, эмульгирующие и суспендирующие агенты, консерванты, подслащивающие агенты или ароматизаторы.

Препараты, подходящие для парентерального введения, включают водные и неводные, изотонические стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостаты и растворенные вещества, которые делают композицию совместимой с кровью предполагаемого реципиента, и водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты, солюбилизаторы, загустители, стабилизаторы и консерванты. Препараты могут быть представлены в однодозовых и многодозовых контейнерах, таких как ампулы и флаконы, и могут храниться в лиофилизированном состоянии (высушенном замораживанием), требуют только добавления стерильного жидкого эксципиента, например воды для инъекций, непосредственно перед применением. Приготовленные экстемпоральные инъекционные растворы и суспензии могут быть получены из стерильных порошков, гранул и таблеток, описанных ранее. Предпочтительными являются инъекционные препараты.

В некоторых вариантах осуществления композиция составлена так, что она имеет рН в диапазоне примерно от 4,5 до примерно 9,0, включая, например, рН в диапазоне примерно от 5,0 до примерно 8,0, примерно от 6,5 до примерно 7,5 и примерно от 6,5 до примерно 7,0. В некоторых вариантах осуществления рН композиции равно не ниже примерно 6, включая, например, не ниже примерно 6,5, 7 или 8 (например, примерно 8). Композицию можно также сделать изотонической с кровью путем добавления подходящего модификатора тоничности, такого как глицерин.

Наборы, лекарственные препараты, композиции и разовые лекарственные формы.

Изобретение также обеспечивает наборы, лекарственные препараты, композиции и разовые лекарственные формы для применения в любом из способов, описанных здесь.

Наборы по изобретению включают один или более контейнеров, содержащих композиции наночастиц, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов (или разовые лекарственные формы и/или изделия), также содержат инструкции для применения в соответствии с любым из способов, описанных здесь. Набор может дополнительно содержать описание отбора субъекта, подходящего для лечения. Инструкции, входящие в наборы по изобретению, обычно представляют собой письменные инструкции на этикетке или на вкладыше в упаковке (например, на листе бумаги, включенном в набор), но также приемлемы машиночитаемые инструкции (например, инструкции, которые хранятся на магнитном или оптическом диске).

Например, в некоторых вариантах осуществления набор содержит а) композицию, содержащую наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин (такой как человеческий сывороточный альбумин); и б) инструкции для введения композиции наночастиц для лечения ПЕКомы. В некоторых вариантах осуществления набор включает а) композицию, содержащую наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин (такой как человеческий сывороточный альбумин); и б) инструкции для введения (например, введения подкожно или внутривенно) композиции наночастиц и других агентов для лечения ПЕКомы. Наночастицы и другие агенты могут находиться в отдельных контейнерах или в одном контейнере. Например, набор может содержать одну отдельную композицию или две или более композиций, где одна композиция содержит наночастицы, и одна композиция содержит другой агент.

Наборы по изобретению находятся в подходящей упаковке. Подходящая упаковка включает, не ограничиваясь этим, флаконы, бутылки, склянки, гибкую упаковку (например, герметичные пакеты Милара или пластиковые мешки) и т.п. Наборы могут необязательно обеспечивать дополнительные компоненты, такие как буферы и интерпретирующую информацию. Таким образом, настоящая заявка также обеспечивает изделия, которые включают флаконы (например, герметичные флаконы), бутылки, склянки, гибкую упаковку и т.п.

Инструкции, касающиеся применения наночастиц, обычно включают информацию о дозе, схеме дозирования и пути введения для предполагаемого лечения. Контейнеры могут представлять контейнеры с разовой дозой, объемные упаковки (например, многодозовые пакеты) или контейнеры с субъединичными дозами. Например, набор, могут быть обеспечены наборы, которые содержат достаточное количество доз ингибитора mTOR (например, такого как лекарственный препарат из группы лимусов, например сиролимуса), описанного здесь, для обеспечения эффективного лечения субъекта в течение длительного периода времени, такого как неделя, 8, 9, 10, 11, 12, 13 суток, 2, 3, 4, 6, 8 недель, 3, 4, 5, 7, 8, 9 месяцев или больше. Наборы также могут включать много разовых доз ингибитора mTOR (например, такого как лекарственный препарат из группы лимусов) и фармацевтические композиции и инструкции для применения и упакованы в количествах, достаточных для хранения и использования в аптеках, например в больничных аптеках и в аптеках, готовящих лекарственные средства по рецепту.

Также обеспечиваются лекарственные средства, композиции и разовые лекарственные формы, пригодные для способов, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления обеспечивается лекарственный препарат (или композиция) для применения в лечении ПЕКомы, включающий наночастицы, содержащие ингибитор mTOR (такой как лекарственный препарат из группы лимусов) и альбумин (такой как человеческий сывороточный альбумин).

Специалисты в данной области понимают, что возможны другие варианты осуществления, не отступая от объема и сущности настоящего изобретения. Далее изобретение будет описано более подробно со ссылкой на следующие неограничивающие примеры. Следующие примеры дополнительно иллюстрируют изобретение, но, конечно никоим образом не должны толковаться как ограничивающие изобретение.

### Примеры

#### Пример 1.

Многоцентровое исследование, фаза II с пациентами, получающими лечение АВI-009.

Пациенты с распространенной злокачественной ПЕКомой, которые ранее не получали лечение ингибитором mTOR, были включены в фазу II одностороннего, открытого, мультицентрового исследования для оценки профиля эффективности и безопасности внутривенного введения АВI-009 (также относится здесь к Nab-сиролимусу или Nab-рапамицину). Если не удовлетворялись критерии нецелесообразности, то стадия 2 должна быть открыта для включения.

По меньшей мере 30 пациентов будет включено в исследование. Гистологию злокачественной ПЕКОмы можно исследовать на месте в каждом медицинском учреждении для включения, но ее необходимо ретроспективно подтвердить путем централизованной экспертизы для каждого пациента после включения, для соответствия заданным критериям злокачественной ПЕКОмы, как указано в критериях включения в исследование. Если пациент ретроспективно не отвечает этим критериям, то следует рассмотреть вопрос о его замене.

Пациент будет иметь право на включение в данное исследование только в том случае, если будут удовлетворяться все следующие критерии: (i) пациенты должны иметь гистологически подтвержденный диагноз распространенной злокачественной ПЕКОмы; (ii) пациенты должны иметь доступный блок образца опухоли вместе с соответствующим отчетом о патологии (или примерно 30 неокрашенных стекол с минимумом 16 стекол обязательно) и/или результаты недавней биопсии, чтобы обеспечить ретроспективное централизованное подтверждение наличия злокачественной ПЕКОмы и для анализа пути mTOR и анализа биомаркеров; (iii) у пациентов должен быть один или несколько измеряемых очагов-мишеней на КТ или МРТ или оцениваемое заболевание согласно RECIST v1.1; (iv) пациенты не должны ранее подвергаться лечению ингибитором mTOR; (v) допускается проведение предшествующего лечения (диагностического или другого), химиотерапии, лучевой терапии, хирургической операции или применение других терапевтических агентов (за исключением ингибиторов mTOR), если оно завершено в период, более чем в пять раз превышающий период полураспада или  $\geq 28$  суток до включения в исследование, в зависимости от того, что меньше; (vi) в исследование включаются пациенты в возрасте от 18 лет и старше, со статусом 0 или 1 Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG); (vii) пациенты должны иметь следующие уровни биохимических показателей крови при скрининге (полученные  $\leq 14$  суток до включения в исследование (в местной лаборатории)): (a) общий билирубин  $\leq 1,5 \times$  верхней границы нормы (ULN) мг/дл, (b) АСТ  $\leq 2,5 \times$  ULN ( $\leq 5 \times$  ULN, если относится за счет метастазов в печени), (c) креатинин сыворотки  $\leq 1,5 \times$  ULN; (viii) адекватные биологические параметры, о чем свидетельствуют следующие показатели крови при скрининге (полученные за  $\leq 14$  суток до включения в исследование, в местной лаборатории): (a) абсолютное количество нейтрофилов (ANC)  $\geq 1,5 \times 10^9$ /л; (b) количество тромбоцитов  $\geq 100000/\text{мм}^3$  ( $100 \times 10^9$ /л); (c) гемоглобин  $\geq 9$  г/дл; (ix) белок в моче  $< 2$  г протеинурии/24 ч; (x) триглицериды в сыворотке крови  $< 300$  мг/дл, холестерин в сыворотке крови  $< 350$  мг/дл, (xi) мужчины или небеременные женщины и женщины, не кормящие грудью (женщины детородного возраста должны дать согласие использовать эффективную контрацепцию без перерыва, за 28 суток до начала введения IP, и также во время испытания лекарственного препарата и иметь отрицательный тест на беременность в сыворотке ( $\beta$ -hCG) при скрининге и согласие на тестирование на беременность в ходе исследования и после окончания лечения, и пациенты мужского пола должны практиковать воздержание или согласиться использовать презерватив во время полового контакта с беременной женщиной или женщиной детородного возраста во время участия в исследовании, даже если он подвергся успешной вазэктомии); (xii) вероятную продолжительность жизни более 3 месяцев, как определено исследователем; (xiii) способность понимать и подписать информированное согласие; (xiv) готовность и способность выполнять запланированные визиты, лабораторные анализы и другие процедуры во время исследования.

Пациент не будет допущен к участию в данном исследовании, если к нему применим один из следующих критериев: (i) исключаются пациенты с лимфангиолейомиоматозом (LAM); (ii) наличие известных активных неконтролируемых или симптоматических метастазов в органы центральной нервной системы (ЦНС) (пациент с контролируемыми и бессимптомными метастазами ЦНС могут участвовать в данном исследовании). При этом пациент должен завершить любое предшествующее лечение метастазов ЦНС за  $\geq 28$  суток (включая лучевую терапию и/или хирургическую операцию) до начала лечения в данном исследовании и не должен получать длительную терапию метастазов ЦНС кортикостероидами); (iii) наличие активного желудочно-кишечного кровотечения, если зависит от переливания; (iv) наличие ранее существующей патологии щитовидной железы разрешается при условии, что функцию щитовидной железы можно контролировать с помощью лекарственных препаратов; (v) наличие неконтролируемого тяжелого соматического или психического заболевания. Пациенты с "текущим активным" вторым злокачественным образованием, отличным от немеланомного рака кожи, карциномы шейки матки in situ, удаленного случайного рака предстательной железы (на стадии pT2 с показателем по шкале Глиссона  $\leq 6$  и послеоперационным ПСА  $< 0,5$  нг/мл) или другой адекватно леченной карциномой in situ, не включаются в исследование (пациенты не считаются имеющими "текущее активное" второе злокачественное образование, если они завершили лечение и не страдают заболеванием в период за  $\geq 1$  год); (vi) допускается лечение заболевания печени за 2 месяца до включения в исследование (включая лечение радиотерапией (в том числе радиомечеными сферами и/или киберножом, эмболизацией печеночной артерии (с химиотерапией или без нее) или криотерапией/аблацией), если эти методы лечения не влияют на области оцениваемого заболевания, используемые для данного протокола); (vii) недавно перенесенная инфекция, требующая системного лечения, которое было завершено за 14 суток до включения в исследование (за исключением неосложненной инфекции мочевых путей или инфекции верхних дыхательных путей); (viii) неконтролируемый сахарный диабет с показателем HbA1c  $> 8\%$ , несмотря на адекватную терапию,

нестабильная стенокардия или инфаркт миокарда в период предшествующих 6 месяцев; (ix) получение любой сопутствующей противоопухолевой терапии; (x) пациенты с историей интерстициального заболевания легких и/или пневмонита или легочной гипертензии; (xi) не разрешается применение определенных лекарств и запрещенных препаратов в период, более чем в пять раз превышающий период полураспада или 28 суток, в зависимости от того, что меньше, до введения первой дозы исследуемого препарата и на протяжении всего исследования; (xii) применение сильных ингибиторов и индукторов CYP3A4 за 14 суток до введения первой дозы ABI-009. Кроме того, применение любых известных субстратов CYP3A4 с узким терапевтическим окном (например, фентанила, альфентанила, астемизола, цизаприда, дигидроэрготамина, пимозида, хинидина, терфанида) в период за 14 суток до введения первой дозы ABI-009.

Предполагается, что исследование займет примерно 32 месяца от первого включенного пациента до последующего наблюдения за пациентом, включая примерно 24 месяца периода включения в исследование, примерно 6 месяцев лечения (или до тех пор, пока лечение больше не переносится), и визит в конце лечения через 4 недели ( $\pm 7$  суток) после последнего лечения.

Следующие оценки будут проводиться на сутки 1 каждого цикла, если не указано иное: (i) физический осмотр; (ii) определение массы тела; (iii) расчет BSA; (iv) оценка сопутствующих лекарственных препаратов и процедур; (v) витальные показатели (такие как температура, систолическое и диастолическое артериальное давление и пульс); (vi) статус работоспособности ECOG; (vii) ЭКГ; (viii) панель клинических биохимических показателей (включая, не ограничиваясь этим, натрий, калий, хлорид, глюкозу, щелочную фосфатазу (ALP), АСТ/SGOT, АЛТ/SGPT, сывороточный альбумин); (ix) СВС, дифференциальное количество и количество тромбоцитов; (x) функция щитовидной железы; (xi) скрининг на гепатит и ВИЧ-инфекцию (каждый нечетный порядковый цикл, начиная с C3); (xii) липиды натошак (каждый четный порядковый цикл, начиная с C2); (xiii) оценка нежелательных явлений; (xiv) определение фармакокинетических параметров (только на сутки 1 цикла 1).

Следующие оценки будут проводиться на сутки 8 каждого цикла, если не указано иное: (i) оценка сопутствующих лекарственных препаратов и процедур; (ii) витальные показатели; (iii) СВС, дифференциальное количество и количество тромбоцитов; (iv) функция щитовидной железы; (v) оценка нежелательных явлений; (vi) определение фармакокинетических параметров (только на сутки 8 цикла 1).

Ответ опухоли на лечение будет оцениваться с помощью КТ или МРТ органов грудной клетки, брюшной и малого таза; получение и оценка снимков будут соответствовать спецификациям, указанным в версии RECIST 1.1. Те же методы (КТ или МРТ) должны использоваться при скрининге и на протяжении всего исследования.

Окончание исследования (EOS) определяется датой последнего визита последнего пациента для завершения исследования или датой получения последней точки данных от последнего пациента, которая требуется для первичного, вторичного и/или исследовательского анализа, как заранее указано в протоколе.

Окончание лечения (EOT) для пациента определяется датой введения последней дозы ABI-009. Визит на окончание лечения пациента имеет место, когда выполняются оценки безопасности и процедуры после последнего лечения, которое должно проходить, по меньшей мере, через 4 недели ( $\pm 7$  суток) после введения последней дозы ABI-009.

Период последующего наблюдения представляет период времени в исследовании после визита EOT. Все пациенты, которые прервали участие в исследовании препарата и не отозвали полное согласие на участие в исследовании, будут продолжать участие в фазе последующего наблюдения в отношении выживаемости и инициирования противоопухолевой терапии. Последующее наблюдение продолжается примерно каждые 12 недель ( $\pm 3$  недели), до смерти, отзыва согласия или закрытия исследования, в зависимости от того, какое событие наступит раньше. Эта оценка может быть сделана путем экспертизы записи и/или телефонного контакта.

Исследование ФК рапамицина будет проводиться с ограниченным отбором проб для ФК для всех пациентов в фазе 2 исследования. Образцы крови будут получены только на сутки 1 цикла 1 (C1D1) и будут отбираться непосредственно до введения препарата (до инфузии), через 0,5 ч (сразу же после окончания инфузии), через 1, 2, 4 и 168 ч (непосредственно до дозирования на C1D8). Примечание: T=0 определяется как начало инфузии, т.е. все временные точки сбора образцов относятся к началу инфузии. Образец в конце инфузии (0,5 ч) отбирают непосредственно перед окончанием инфузии. Если продолжительность инфузии изменена, то образец следует отбирать непосредственно перед окончанием инфузии. Образцы цельной крови будут отбираться в пробирки с ЭДТА для определения концентрации рапамицина в центральной лаборатории.

Пациенты будут получать ABI-009 в дозе  $100 \text{ мг/м}^2$  2 раза в 3 недели внутривенной инфузией в течение 30 мин. Допускаются два уровня снижения дозы:  $75$  и  $56 \text{ мг/м}^2$ . Пациенты будут продолжать лечение до прогрессирования заболевания, проявления неприемлемой токсичности, пока, по мнению исследователя, пациент больше не получает пользы от терапии или по усмотрению пациентов.

Пациенты будут оцениваться на наличие полного ответа (CR), частичного ответа (PR), стабильного

заболевания (SD) или прогрессирующего заболевания (PD) с помощью КТ. Также можно использовать МРТ с контрастированием, если в ходе исследования используется этот метод. Результаты сканирования в период до начала лечения могут быть приняты из внешних учреждений, но должны быть выполнены в течение 4 недель после начала терапии и должны включать (как указано клинически) КТ или МРТ органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза. Первая оценка ответа с помощью КТ или МРТ, документирующая очаги-мишени, будет выполнена через 6 недель после первого лечения и должна повторяться каждые 6 недель в течение первого года, затем каждые 12 недель до прогрессирования заболевания. Если начальное наблюдение объективного ответа (CR или PR) сделано, то подтверждающее сканирование должно быть выполнено через 6 недель после первоначального наблюдения.

Первичная конечная точка, ORR, будет определяться независимым рентгенологом(ами). Независимая рентгенологическая экспертиза будет следовать отдельным протоколам визуализации.

После прогрессирования заболевания за пациентами будет проводиться наблюдение в отношении выживаемости каждые 12 недель или чаще, когда это необходимо, до смерти, отзыва согласия или закрытия исследования, в зависимости от того, какое событие наступит раньше.

Безопасность и переносимость будут контролироваться посредством постоянной отчетности о лечении и нежелательных явлениях, связанных с лечением (АЕ), АЕ, представляющих особый интерес, отклонений в лабораторных показателях и доли пациентов с изменением дозы, откладыванием дозы/отменой дозы, прерыванием введения дозы и/или преждевременного прекращения введения IP за счет АЕ. Все АЕ регистрируются исследователем с момента, когда пациент подписывает информированное согласие до 28 суток после введения последней дозы IP. Нежелательные явления будут оцениваться согласно Общим терминологическим критериям для нежелательных явлений (CTCAE) v4.03 Национального института рака (NCI).

Будет контролироваться физическое состояние, витальные признаки, лабораторные анализы (например, биохимические показатели сыворотки крови, гематологические показатели) и статус работоспособности ECOG. Все SAE (независимо от отношения к IP) будут наблюдаться до анализа. Лабораторные анализы будут проводиться в соответствии с графиком исследования.

Первичный анализ будет посвящен всем целям исследования, и он будет проводиться, когда у всех пациентов будет обеспечена возможность лечиться в течение, по меньшей мере, 6 месяцев. Все первичные, вторичные и исследовательские анализы эффективности и безопасности будут проводиться на время первичного анализа, за исключением биомаркеров, которые могут быть проанализированы позднее.

Первичная конечная точка представляет ORR оценивается независимой рентгенологической экспертизой и определяется как доля пациентов, которые достигают подтвержденного PR или CR согласно RECIST 1.1.

Данное исследование предназначено для тестирования того, насколько подтвержденный ORR у пациентов, получавших AVI-009, составляет более 5%, что определяется с использованием точного биномиального одностороннего теста с ошибкой типа 1 0,025. С наличием примерно 30 пациентов исследование обеспечит более 95% мощность, чтобы отклонить нулевую гипотезу о том, что ORR составляет  $\leq 5\%$  с учетом истинной степени ответа 30%. В дополнение к тесту гипотезы будут суммированы количество и процент пациентов, достигших ORR, и будет обеспечен точный 95% доверительный интервал. Полагая, что наблюдаемый ORR составляет 30%, нижняя граница 95% доверительного интервала (CI) для установленного ORR будет исключать значения ниже 14,7%.

Анализ вторичных конечных точек эффективности PFS, частота PFS через 6 месяцев, DOR и OS будет выполняться отдельно для двух подгрупп пациентов: 1) пациентов с метастатическим заболеванием и 2) пациентов с неоперабельным местно-распространенным заболеванием или операбельным заболеванием, требующем многочисленных резекций. Некоторым из пациентов в подгруппе с местно-распространенным заболеванием может быть дана клиническая рекомендация для проведения хирургической операции, если имеется достаточное уменьшение размера опухоли, что приведет к отклонению от анализа.

Для пациентов с метастатическим заболеванием будут суммированы PFS на 6 месяцев, медиана PFS, DOR и OS с использованием анализа Каплана-Мейера (KM). Будут суммированы квартили с 95% CI. Ожидается, что число пациентов с неоперабельным местно-распространенным заболеванием или операбельным заболеванием, требующим многочисленных резекций, будет небольшим; следовательно, PFS (медиана и на 6 месяцев), DOR и OS для этих пациентов будут суммироваться описательной статистикой.

Основная цель молекулярного профилирования опухолей состоит в том, чтобы идентифицировать специфические маркеры, которые являются прогностическими ответа на лечение AVI-009.

Образцы крови будут отобраны для получения коллекции бесклеточной ДНК плазмы крови (образцы до и после лечения являются обязательными): молекулярный анализ бесклеточной ДНК плазмы крови с использованием секвенирования следующего поколения для оценки распространенности мутаций, установленных в первичном образце опухоли в течение времени в качестве показателя ответа на терапию.

Также будет выполнен анализ мутаций или эпигенетических изменений в биопсийном образце опу-

холи. Архивные или свежие биопсийные образцы опухолевой ткани необходимы от пациентов, участвующих в данном исследовании (обязательные).

Кроме того, биопсии будут проводиться во время лечения для оценки фармакодинамических эффектов, если таковые имеются. После последнего лечения и во время прогрессирования, если проводится биопсия, то будет отобран образец опухоли. Отбираются биопсийные образцы опухолей и анализируются фармакодинамические изменения для определения влияния препарата на мишень(и) в опухоли, а также для потенциального анализа молекулярных механизмов, связанных с приобретенной резистентностью. Для оценки мутаций во всех известных генах пути mTOR, включая, не ограничиваясь этим, PIK3CA, TSC1, TSC2, AKT, PTEN, MTOR, будет проводиться экзомное секвенирование с использованием анализа ONCOPANEL™ (ВНН Pathology Department, сертифицированного CLIA) примерно 300 генов, и RHEB. Будет проведена оценка корреляций клинического ответа на терапию, а также тестирование корреляции между биопсией и анализом циркулирующей ДНК. Будет выполнен анализ транслокаций в TFE3 с использованием FISH (флуоресцентной гибридизации in situ). Эти исследования будут проводиться в Лаборатории Центра Молекулярной Диагностики в Бригаме и Женской больнице, Бостон, Массачусетс, также сертифицированных CLIA.

Будут выполнены иммуногистохимические исследования на маркеры релевантного пути, включая, не ограничиваясь этим, фосфопротеины p-AKT, p-S6, p-S6K, p-4EBP1 и p-SPARC; маркеры пролиферации, такие как Ki-67; и маркеры апоптоза, такие как PARP или его фрагменты. Образцы после лечения (прогрессирования) будут анализироваться с использованием аналогичного экзомного секвенирования, как указано выше, для исследования причин резистентности, включая вторичные мутации и события геномной амплификации или делеции.

#### Пример 2.

Клиническое пилотное исследование Nab-сиролимуса при злокачественных опухолях с аберрантным путем mTOR.

Одногрупповое клиническое исследование, фаза II, предназначено для оценки эффективности Nab-сиролимуса (также относится к ABI-009) у субъекта с ПЕКомой и мутационного статуса гена mTOR-пути, в частности субъектов с мутационным статусом гена, который придает чувствительность к ингибиторам mTOR (таким как композиция, содержащая наночастицы, содержащие лекарственный препарат из группы лимусов и альбумин). Мутационный статус генов идентифицируют у субъектов в клиническом исследовании с использованием секвенирования следующего поколения. Первичная цель исследования заключается в оценке частоты ответа на Nab-сиролимус у субъектов с ПЕКомой и мутационным статусом mTOR-активирующего гена. Вторичными целями являются (1) установление времени до прогрессирования и общей выживаемости отобранных субъектов и (2) оценка профиля нежелательных явлений, связанных с Nab-сиролимусом, у отобранных субъектов. Кроме того, проводится корреляционное исследование для оценки частоты мутационного статуса mTOR-активирующих генов у субъекта и оценки связи между мутационным статусом mTOR-активирующих генов у субъекта и клиническим исходом у субъектов с ПЕКомой.

В клиническое исследование входит одна группа субъектов. До включения субъектов оценивают в лаборатории, сертифицированной CLIA, на мутации mTOR-активирующего гена, по меньшей мере в одном из mTOR-ассоциированных генов, выбранных из группы, состоящей, например, из AKT1, MTOR, PIK3CA, PIK3CG, TSC1, TSC2, RHEB, STK11, NF1, NF2, PTEN, TP53, FGFR4 и VAP1. Для лечения отбирают субъектов, имеющих, по меньшей мере, мутацию одного mTOR-активирующего гена и отвечающих всем критериям включения. Архивный образец опухолевой ткани в парафине (PPFE) может быть необязательно получен от каждого субъекта. Отобранным субъектам вводят Nab-сиролимус внутривенно в дозе примерно 75 мг/м<sup>2</sup> на 1, 8 и 15 сутки 28-суточного цикла или примерно 100 мг/м<sup>2</sup> на 1 и 8 сутки 21-суточного цикла. Инфузию Nab-сиролимуса проводят в течение примерно 30 мин при каждом введении. Субъекты продолжают получать лечение Nab-сиролимусом и активно наблюдаются до появления прогрессирования заболевания и/или неприемлемых нежелательных явлений, или пока субъект откажется получать лечение. Если отмечены многочисленные нежелательные явления, то введение Nab-сиролимуса может быть прервано или снижена его доза для обеспечения контроля связанной с препаратом токсичности. Например, доза Nab-сиролимуса может быть сначала уменьшена до 56 мг/м<sup>2</sup> в/в на 1, 8 и 15 сутки 28-суточного цикла, и затем во второй раз снижена до 45 мг/м<sup>2</sup> в/в на 1, 8 и 15 сутки 28-суточного цикла. Для каждого субъекта допускается только два снижения дозы. По усмотрению врача могут быть разрешены вспомогательные препараты, такие как противорвотные средства, факторы роста (G-CSF), бисфосфонаты или деносумаб для ранее имеющихся, болезненных метастазов в костях, кровь и продукты крови, варфарин или LMWH и/или лоперамид для диареи. Субъекты должны посещать учреждение, дающее разрешение на участие в исследовании, для лечения и оценки не реже одного раза в 28 суток (или примерно от 25 до 31 суток) во время лечения. Проводят определение биомаркеров (последовательности и уровни AKT1, MTOR, PIK3CA, TSC1, TSC2, RHEB, STK11, NF1, NF2 и PTEN и уровень фосфорилированных 4EBP1 и S6) для каждого субъекта на сутки 1 цикла 1, сутки 1 (±3 суток) цикла 2 и сутки 1 (±3 дня) цикла 3 и затем каждые 2 цикла. Образец крови отбирают у каждого субъекта для анали-

за циркулирующей (например, бесклеточной) ДНК до и после полного курса лечения.

Различные биологические образцы отбирают у каждого субъекта в ходе исследования (например, до лечения, во время лечения и после лечения), и биологические образцы используются для оценки мутационного статуса и уровня релевантных биомаркеров. Биологические образцы во время лечения могут быть отобраны у субъекта, например, на сутки 1 цикла 1, сутки 1 ( $\pm 3$  суток) цикла 2 и сутки 1 ( $\pm 3$  суток) цикла 3 и затем каждые 2 цикла. Образец крови отбирают у каждого субъекта до и после лечения. Образец бесклеточной ДНК плазмы получают из каждого образца крови для оценки циркулирующей ДНК. Образцы бесклеточной ДНК плазмы анализируют с использованием методов секвенирования следующего поколения для оценки распространенности мутаций mTOR-активирующих генов, идентифицированных в образце первичной опухоли во времени в качестве показателя ответа на лечение. Кроме того, перед лечением у каждого субъекта отбирают свежие или архивные (например, PPFЕ) биопсийные образцы опухоли и, необязательно, во время курса лечения (т.е. во время лечения). Биопсийные образцы опухоли во время лечения используются для оценки фармакодинамических эффектов Nab-сиролимуса у субъектов. Биопсийные образцы опухоли после лечения отбирают у каждого субъекта на время прогрессирования заболевания после ответа на лечение для оценки механизмов резистентности, включая вторичные мутации, события геномных амплификаций или делеции генов. Эксперименты по экзомному секвенированию с использованием анализа ONCOPANEL™, состоящего примерно из 300 генов, выполняются для оценки мутаций в генах пути mTOR, включая, не ограничиваясь этим, PIK3CA, TSC1, TSC2, AKT, PTEN, MTOR и RHEB. Кроме того, оценивают mTOR-активирующие aberrации (последовательности и уровни биомаркеров, включая, не ограничиваясь этим, AKT1, MTOR, PIK3CA, PIK3CG, TSC1, TSC2, RHEB, STK11, NF1, NF2, PTEN, TP53, FGFR4 и VAP1), и уровень фосфорилированных AKT (т.е. p-AKT), 4EBP1 (т.е. p-4EBP1) и S6K (т.е. p-S6K) с использованием биопсийных образцов опухоли. Маркеры пролиферации (такие как Ki-67) и маркеры апоптоза (такие как PARP) можно оценить с использованием методов иммуногистохимии. Проводят анализ транслокаций в TFE3 с использованием FISH (флуоресцентной гибридизации *in situ*). Результаты анализа используются для оценки корреляции мутаций mTOR-активирующих генов с клиническим ответом на лечение и для тестирования корреляции между мутациями mTOR-активирующих генов, идентифицированных в биопсийных образцах опухоли, и циркулирующей ДНК.

Первичной конечной точкой этого исследования является доля подтвержденных ответов. При ПЕКОмах подтвержденный ответ определяется как CR или PR, отмеченный как объективный статус при двух последовательных оценках по меньшей мере на неделе 8. Подтвержденный ответ будет оцениваться во время всех циклах лечения. Рассчитывается точный биномиальный доверительный интервал для истинной подтвержденной доли ответа. Вторичные конечные точки данного исследования включают время выживаемости, время до прогрессирования заболевания и нежелательные явления. Распределение времени выживаемости и распределение времени до прогрессирования заболевания оценивают с использованием метода Каплана-Мейера. Для всех первичных и вторичных конечных точек статистический анализ проводят для всей популяции пациентов и внутри каждой группы.

Корреляционное исследование проводят для определения связи лечения с качеством жизни и индивидуальным мутационным статусом mTOR-активирующих генов для общей группы пациентов. Качество жизни оценивают до анализа ответа на лечение и обсуждения общего состояния здоровья пациента со времени последней оценки лечения. Качество жизни оценивается с использованием EORTC QLQ-C30, 30-пунктного опросника пациента о способности пациента функционировать, симптомах, связанных с раком и его лечением, общем состоянии здоровья и качестве жизни, а также об осязаемых финансовых последствиях рака и его лечения. Кривые шкалированного балла оценки качества жизни во времени рассматриваются с использованием стрим-графиков и графиков средних значений со стандартными отклонениями в виде столбцов. Изменения от исходного периода в каждом цикле статистически анализируются с использованием парных t-тестов, и стандартизованный ответ интерпретируется после применения поправки Мидделя (2002) с использованием отсечений Коэна (1988):  $<0,20$  = тривиальный;  $0,20-<0,50$  = небольшой;  $0,5-<0,8$  = средний и  $\geq 0,8$  = большой. Описывается частота mTOR-активирующих aberrаций у субъекта, и исследуется связь с подтвержденным ответом с использованием точного теста Фишера. Связь со временем до прогрессирования и общей выживаемостью исследуется с использованием логарифмических ранговых критериев. Во всех случаях односторонние р-значения на уровне  $\leq 0,10$  считаются статистически значимыми.

Субъекты, подходящие для включения в исследование, должны соответствовать всем следующим критериям включения: (a) имеют гистологическое подтверждение наличия ПЕКОмы (например, лимфангиолейомиоматоза); (b) имеют распространенную стадию рака; (c) имеют мутацию, по меньшей мере, одного гена пути mTOR, подтвержденную в лаборатории, сертифицированной CLIA, и мутация пути mTOR выбрана из генетических мутаций в AKT1, MTOR, PIK3CA, TSC1, TSC2, RHEB, STK11, NF1, NF2, PTEN (например, делеция PTEN), TP53, FGFR4 и VAP1; (d) не подвергались ни одному из следующих методов лечения: (1) химиотерапия в течение 4 недель до лечения Nab-сиролимусом; (2) гормональная терапия в течение 4 недель до лечения Nab-сиролимусом; (3) лучевая терапия в течение 4 недель до

лечения Nab-сиролимусом; (4) лечение нитрозомочевинами, митомицином или интенсивной лучевой терапией в течение 6 недель до лечения Nab-сиролимусом; (5) иммунодепрессантами в течение 3 недель до лечения Nab-сиролимусом (кроме кортикостероидов, используемых в качестве противорвотных средств); (6) применение предшествующей терапии ингибитором пути mTOR; (d) имеют следующие лабораторные показатели, полученные не более чем за 14 суток до включения в исследование: (1) абсолютное количество нейтрофилов (ANK)  $\geq 1,5 \times 10^9/\text{л}$ , количество тромбоцитов  $\geq 100000/\text{мм}^3$  ( $100 \times 10^9/\text{л}$ ), (2) гемоглобин  $\geq 9$  г/дл, (3) общий билирубин  $\leq 1,5 \times$  установленного верхнего предела нормы (ULN); (4) аспарататрансаминаза (АСТ); аланинаминотрансфераза (АЛТ)  $\leq 3 \times$  ULN или  $\leq 5 \times$  ULN, если у субъекта в процесс вовлечена печень; (5) холестерин в сыворотке крови  $< 350$  мг/дл; (6) триглицериды в сыворотке крови  $\leq 300$  мг/дл; (7) креатинин в сыворотке крови  $\leq 1,5 \times$  ULN; (e) у субъектов ранее отсутствовала эффективность, они не переносили или отказались от других доступных активных методов лечения; (f) имеют адекватную функцию свертывания крови, определяемую одним из следующих критериев: (1) INR  $\leq 1,5 \times$  ULN; (2) для субъектов, получающих варфарин или LMWH: субъекты должны, по мнению исследователя, быть клинически стабильными без признаков активного кровотечения при приеме антикоагулянтной терапии.

Критерии исключения: (a) беременные или кормящие женщины или женщины детородного возраста, которые биологически способны забеременеть, или мужчины, способные зачать ребенка, без использования двух форм высокоэффективной контрацепции; (b) пациенты с историей интерстициального заболевания легких и/или пневмонии; (c) получение любой сопутствующей противоопухолевой терапии или ингибиторов CYP3A4; (d) история аллергических реакций, связанных с соединениями аналогичного химического или биологического состава, включая макролид (например, азитромицин, кларитромицин, диритромицин и эритромицин) и кетолидные антибиотики; (e) обширная хирургическая операция (например, интраторакальная, абдоминальная операция или операция на органах малого таза) за  $\leq 4$  недели до включения в исследование или невозможность восстановиться от побочных эффектов такой операции за исключением случаев размещения портов, нефрэктомии, биопсий опухолей и малых хирургических операций; (f) одновременное применение любых других одобренных или исследовательских противораковых агентов, которые будут рассматриваться в качестве лечения первичного новообразования; (g) неконтролируемый сахарный диабет, определяемый HbA1c  $> 8\%$ , несмотря на адекватную терапию; (h) нестабильная стенокардия или инфаркт миокарда в течение предшествующих 6 месяцев и (i) гипертония, неконтролируемая лекарственными препаратами.

Пример 3.

Лечение метастатической ПЕКОмы Nab-сиролимусом.

У пациента с ПЕКОмой легкого (ранее лечившегося адъювантной лучевой терапией и затем подвергнутого хирургической резекции ПЕКОмы легкого примерно 5 месяцев назад) предположили образование нового подозрительного метастатического очага при обследовании КТ. Новый прекаринальный (средостенный) лимфатический узел имел диаметр примерно 1,5 см. Поскольку размер нового очага был пограничным по отношению к критериям включения для REC001 (RECIST, требующий наличие оцениваемого заболевания), пациент был подвергнут другой компьютерной томографии примерно через 1 месяц. На этот период времени очаг был измеряемым, и у пациента также имел место новый очаг в плевральной полости  $> 2$  см. Учитывая наличие нового очага, выявленного на последней компьютерной томографии, метастатическая ПЕКОма рассматривалась в качестве агрессивной опухоли, которая быстро прогрессировала. Пациент дал согласие на участие в исследовании REC001 и лечение Nab-сиролимусом (также относится к AVI-009) начали в дозе  $100 \text{ мг}/\text{м}^2$ , в/в инфузией в течение 30 мин и повторили на вторую из 3-недельного графика. Следующая КТ в период последующего наблюдения была запланирована через 6 недель в соответствии с клиническим протоколом REC001. В течение этого периода пациент получал Nab-сиролимус согласно протоколу, хорошо переносил лекарственное средство и не сообщал о значительных нежелательных явлениях. При проведении КТ на неделе 6 периода последующего наблюдения очаги не изменились по сравнению с предыдущим сканированием, и полагается, что заболевание стабилизировалось в результате лечения Nab-сиролимусом. Дальнейшее лечение и последующее наблюдение продолжается в соответствии с протоколом, и пациент продолжает переносить лечение без проявления значительных нежелательных явлений.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения злокачественной периваскулярной эпителиоидноклеточной опухоли (ПЕКОма) у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, включающей наночастицы, содержащие сиролимус и альбумин, где композицию наночастиц вводят внутривенно, при этом субъекту не менее примерно 50 лет.

2. Способ по п.1, где ПЕКОма выбрана из группы, состоящей из светлоклеточной "сахарной" опухоли легкого или ПЕКОмы других локализаций (ПЕКОмы-NOS).

3. Способ по п.1 или 2, где эпителиоидная опухоль является местно-распространенной, метастатической или рецидивирующей.

4. Способ по любому из пп.1-3, где эффективное количество сиролимуса в композиции наночастиц составляет примерно от 10 до примерно 150 мг/м<sup>2</sup>.
5. Способ по любому из пп.1-4, где эффективное количество сиролимуса в композиции наночастиц составляет примерно 100 мг/м<sup>2</sup>.
6. Способ по любому из пп.1-4, где эффективное количество сиролимуса в композиции наночастиц составляет примерно 75 мг/м<sup>2</sup>.
7. Способ по любому из пп.1-6, где композицию наночастиц вводят еженедельно.
8. Способ по любому из пп.1-7, где композицию наночастиц вводят еженедельно, 2 раза в 3 недели.
9. Способ по любому из пп.1-8, где наночастицы в композиции имеют средний диаметр не более чем примерно 150 нм.
10. Способ по любому из пп.1-9, где сиролимус в наночастицах связан с альбумином.
11. Способ по любому из пп.1-10, где массовое соотношение альбумина и сиролимуса в композиции наночастиц составляет примерно от 1:1 до примерно 9:1.
12. Способ по любому из пп.1-11, где альбумин представляет человеческий альбумин или где альбумин представляет человеческий сывороточный альбумин.
13. Способ по любому из пп.1-12, где субъект является человеком.
14. Способ по любому из пп.1-13, где субъект отобран для лечения, основываясь на уровне меланочитарного маркера и гладкомышечного маркера.
15. Способ по любому из пп.1-14, где субъект отобран для лечения, основываясь на мутационном статусе гена, выбранного из группы, состоящей из TSC1, TSC2, TFE3, RHEB, MTOR, AKT, PIK3CA и PTEN.
16. Способ по любому из пп.1-15, где субъект отобран для лечения, основываясь на статусе фосфорилирования белка, выбранного из группы, состоящей из AKT, S6, S6K и 4EBP1.
17. Способ по любому из пп.1-16, где субъект отобран для лечения, основываясь на уровне маркера пролиферации или маркера апоптоза.
18. Способ по любому из пп.1-17, где субъект ранее не подвергался лечению ингибитором mTOR.

