



NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.

A61K 31/4745 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Øversettelse publisert	2011.08.08
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet:	2011.03.09
(86)	Europeisk søknadsnr:	08827826.2
(86)	Europeisk innleveringsdag	2008.07.02
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2010.04.14
(30)	Prioritet	2007.07.05 FR 0704868
(84)	Utpekte stater	AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MT NL NO PL PT RO SE SI SK TR
	Utpekte samarbeidende stater	AL BA MK RS
(73)	Innehaver	Aventis Pharma S.A., 20, avenue Raymond Aron92160 Antony, Frankrike
(72)	Oppfinner	BISSERY, Marie-Christine, c/o Sanofi-AventisDpartement Brevets174 avenue de FranceF-75013 Paris, Frankrike CHIRON-BLONDEL, Marielle, c/o Sanofi-AventisDpartement Brevets174 avenue de FranceF-75013 Paris, Frankrike LEJEUNE, Pascale, c/o Sanofi-AventisDpartement Brevets174 avenue de FranceF-75013 Paris, Frankrike VRIGNAUD, Patricia, c/o Sanofi-AventisDpartement Brevets174 avenue de FranceF-75013 Paris, Frankrike
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	Antitumorkombinasjoner inneholdende et VEGF-inhiberende middel og irinotecan
(56)	Anfrte publikasjoner	WO-A-2005/011734 B1, HOFF PAULO M ET AL: "A phase I study of escalating doses of the tyrosine kinase inhibitor semaxanib (SU5416) in combination with irinotecan in patients with advanced colorectal carcinoma" JAPANESE JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 36, no. 2, fvrier 2006 (2006-02), pages 100-103, XP008087904 ISSN: 0368-2811(print) 1465-3621(ele), YOKOI KENJI ET AL: "Dual inhibition of epidermal growth factor receptor and vascular endothelial growth factor receptor phosphorylation by AEE788 reduces growth and metastasis of human colon carcinoma in an orthotopic nude mouse model" CANCER RESEARCH, vol. 65, no. 9, mai 2005 (2005-05), pages 3716-3725,3707, XP002466374 ISSN: 0008-5472, VANHOEFER U ET AL: "IRINOTECAN IN COMBINATION WITH NEW AGENTS" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER. SUPPLEMENT, PERGAMON, OXFORD, GB, vol. 2, no. 7, juin 2004 (2004-06), pages 14-20, XP001207039 ISSN: 1359-6349, YAZICI YASEMIN D ET AL: "Antivascular therapy of oral tongue squamous cell carcinoma with PTK787." THE LARYNGOSCOPE DEC 2005, vol. 115, no. 12, dcembre 2005 (2005-12), pages 2249-2255, XP008087914 ISSN: 0023-852X, JONES-BOLIN, SUSAN ET AL: "The effects of the oral, pan- VEGF -R kinase inhibitor CEP-7055 and chemotherapy in orthotopic models of glioblastoma and colon carcinoma in mice" MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS , 5(7), 1744-1753 CODEN: MCTOCF; ISSN: 1535-7163, 2006, XP002466373

Beskrivelse

Denne oppfinnelsen gjelder kombinasjoner av VEGF-hemmeren VEGF Trap og den kjemotoksiske agenten irinotekan, som hører inn under gruppen topoisomerase-hemmere og som benyttes i behandling av neoplastiske sykdommer.

VEGF-hemmere, som hemmer vaskulær endotelial vekstfaktor, er i de fleste tilfeller biologiske preparater hentet fra løselige reseptorer, antisens, RNA-aptamerer eller antistoffer. Topoisomerasehemmerne som benyttes i behandling av kjente neoplastiske sykdommer velges blandt kamptoteciner, deriblant CPT 11, topotekan og pyridobenzoindol. Denne kombinasjonen er spesielt rettet mot behandling av kreft i tykktarm og magesekk.

Beskrivelsen og fremstillingen av preparatet med VEGF som benyttes i oppfinnelsen er et VEGF-Trap fusjonsprotein og er beskrevet i patentsøknaden WO00/75319. Fusjonsproteinet kan fremstilles på forskjellige måter.

Fremgangsmåten for VEGF-Trap er beskrevet i figur 24 (sekvens). VEGF Trap som er brukt i oppfinnelsen er et fusjonsprotein som omfatter signalsekvensen til VEGFR1 fusjonert med VEGFR1-reseptorens Ig D2-domene, som igjen er fusjonert med VEGFR2-reseptorens Ig D3-domene som igjen er fusjonert med Fc-domenet til IgG1 også kalt VEGFR1R2-Fc Δ C1 eller Flt1D2.Flk1D3.Fc Δ C1.

Dosene av VEGF Trap som benyttes i behandling av mennesker, som avhenger av faktorer hos den som skal behandles, ligger som regel mellom 1 et 10 milligram per kilo når administrasjonen gis subkuttant eller intravenøst.

Av topoisomerase-hemmere benytter man irinotekan også kjent under fellesbetegnelsen CPT-11.

Irinotekan gis som regel intravenøst med en dose på mellom 100 mg/m² og 500 mg/m² avhengig av administrasjonsskjema. For eksempel benyttes en dose på 150 mg/m² ved ukentlig behandling og en dose på mellom 200 og 400 mg/m² ved behandling hver tredje uke.

I en artikkel av H Hurwitz, L Fehrenbacher, W Novotny, T Cartwright, J Hains-

worth, W Heim, J Berlin, A Baron, S Griffing, E Holmgren, N Ferrera, G Fyfe, B Rogers, R Ross, F Kabbinavar utgitt i « The New England Journal of Medecine » beskrives en klinisk studie som viser en høyere overlevelsesrate ved bruk av bevacizumab kombinert med irinotekan, 5FU og leucovorin sammenlignet med samme kombinasjon som ikke inneholder bevacizumab. Det er ingenting i denne kliniske studien som beviser at forbedringen i overlevelsesraten kommer av kombinasjonen av irinotekan og bevacizumab, den kan like gjerne komme av kombinasjonen av 5FU eller leucovorin med bevacizumab eller av kombinasjonen av de fire elementene. Det er imidlertid kjent at hver av agensene i kreftbehandlingen gir toksiske bivirkninger i tillegg til den terapeutiske effekten og det er derfor hensiktsmessig å maksimalt begrense bruken av dem, især når man kan oppnå samme effekt ved fravær av minst en av dem. Videre viser artikkelen ingen synergieffekt slik den defineres av Corbett, det vil si en effekt som ikke kan oppnås ved bruk av maksimal tolerert dose av elementene i kombinasjonen brukt enkeltvis.

VEGF Trap er en løselig reseptor som fremstilles ved fusjon mellom VEGFR-1 sitt andre Ig-domene og VEGFR-2 sitt tredje Ig-domene som deretter bindes til Fc-delen av et menneskelig IgG1. I likhet med reseptoren VEGFR-1, har aflibercept (VEGF Trap) en meget høy affinitet for VEGF-A med en Kd på 0,5 pM. Bindingen med høy affinitet mellom VEGF Trap og VEGF-A ender i dannelsen av et kompleks som hindrer VEGF i å feste seg og aktivere reseptorene sine på overflaten av cellene.

I sammenligning med Avastin (eller bevacizumab) er VEGF Trap en løselig reseptor, mens Avastin er et antistoff rettet mot VEGF-A. VEGF Trap har en mye høyere affinitet for VEGF-A enn Avastin og en annerledes selektivitetsprofil ettersom VEGF Trap også binder seg til de andre ligandene i reseptorene VEGFR1-2, det vil si til PlGF (placental growth factor) og VEGF-B. Videre har VEGF Trap en betraktelig lavere molekylvekt enn Avastin (115 kDa for aflibercept versus 160 kDa for Avastin) noe som gir bedre penetrering av solide tumorer.

Det er nå blitt oppdaget, og det er dette oppfinnelsen gjelder, at effekten av VEGF Trap kan forbedres betraktelig når det gis i kombinasjon med en substans som brukes terapeutisk i behandling av kreftsykdommer og som har en annen virkemåte enn VEGF-hemmerne, nemlig irinotekan.

Videre, ettersom preparatenes effekt avhenger av dosen som benyttes, er det mulig å bruke høyere doser og øke effekten og samtidig redusere eller utsette toksiske virkninger ved å kombinere VEGF-hemmeren med andre substanser som påvirker hematopoietiske vekstfaktorer som G-CSF eller GM-CSF eller enkelte interleukiner.

Oppfinnelsen gjelder kombinasjoner av VEGF Trap og irinotekan.

Den forbedrede virkekräften av en kombinasjon ifølge oppfinnelsen kan bevises gjennom den terapeutiske synergieffekten som oppnås.

En kombinasjon har terapeutisk synergieffekt dersom den er terapeutisk bedre enn det ene eller det andre elementet anvendt ved dets optimale dose.

For å illustrere virkekräften av en kombinasjon, kan det være nødvendig å sammenligne maksimal tolerert dose av kombinasjonen med maksimal tolerert dose av elementene den består av enkeltvis i studien som vurderes. Virkekräften kan tallfestes, for eksempel som \log_{10} av drepte celler som beregnes ved hjelp av følgende formel:

$$\log_{10} \text{ av drepte celler} = T - C \text{ (dager)} / 3,32 \times T_d$$

hvor T - C representerer forsinkelsen i celleveksten som gjennomsnittstid, i antall dager, før tumorene i gruppen som behandles (T) og tumorene i kontrollgruppen (C) har nådd en forhåndsbestemt verdi (for eksempel 1 g) og T_d representerer fordoblingstid for tumor i dyrekontrollgruppen i antall dager [T.H. CORBETT et al., Cancer, 40, 2660.2680 (1977) ; F.M. SCHABEL et al., Cancer Drug Development, Part B, Methods in Cancer Research, 17, 3-51, New-York, Academic Press Inc. (1979)] Et preparat regnes som aktivt dersom \log_{10} av drepte celler er større eller lik 0,7. Et preparat regnes som svært aktivt dersom \log_{10} av drepte celler er større enn 2,8.

Kombinasjonen, gitt med egen maksimal tolerert dose, hvor dosen av de enkelte elementene den består av er mindre eller lik elementets maksimale tolererte dose har terapeutisk synergieffekt dersom \log_{10} av drepte celler er større enn

verdien av \log_{10} av drepte celler av det beste elementet når det administreres alene, især med en differanse på minst en log cell kill.

5 Virkekraften av kombinasjonene på solide tumorer kan eksperimentelt beregnes på følgende måte:

10 Forsøksdyrene, som oftest mus, får et menneskelig HT116 tumorfragment på 30 til 60 mg transplantert bilateralt inn under huden (BRATTAIN, M.G., FINE, W.D., KHALED, F.M., THOMPSON, J. og BRATTAIN, D.E., Heterogeneity of malignant cells from a human colonic carcinoma. Cancer Res., 1981, 41, 1751-1756.) på dag 0. De tumorbærende dyrene fordeles tilfeldig før de blir underlagt forskjellige behandlinger og kontroller. Under behandling av tumor med foreliggende oppfinnelse, lot man tumorene utvikle seg til en størrelse på mellom 48 og 294 mg, noe som ga en mediantumor per gruppe på mellom 129 og 162 mg. Dyrene 15 som gjennomgikk behandling med VEGF Trap alene hadde en vekt på mellom 17,1 og 22,7 g, dyrene som gjennomgikk behandling med irinotekan alene hadde en vekt på mellom 17,5 og 22,3 g og de som gjennomgikk behandling med kombinasjonen av de to hadde en vekt på mellom 17,5 og 23,6 g. Enkelte tumorbærende dyr har også gjennomgått samme behandling med hjelpestoffet 20 alene for å kunne skille den toksiske virkningen av hjelpestoffet fra effekten av kjemoterapien på tumoren. Kjemoterapien startet den 12. dagen etter transplantering av tumor. Injeksjonene av VEGF Trap ble utført subkutant samtidig med injeksjonene av irinotekan som ble gitt intravenøst to ganger daglig. Injeksjonene ble gitt på dag 12, 15, og 18 etter implantasjon av tumor. De forskjellige dyregruppene ble veid tre eller fire ganger i uken til maksimalt vekttap er oppnådd 25 og deretter ble gruppene veid minst en gang i uken til forsøket ble avsluttet.

30 Tumorene ble målt to eller tre ganger i uken til de hadde nådd rundt 2 g eller til dyret døde, dersom dette intraff før tumor hadde nådd 2 g. Dyrene ble obdusert etter avlaving.

Den antitumorale effekten ble beregnet ut fra de forskjellige registrerte parametre.

35 Som eksempel vises de oppnådde resultater med kombinasjoner av optimal dose av VEGF Trap og irinotekan i tabellene nedenfor.

Oppfinnelsen gjelder også legemiddelsettene som inneholder preparatene som brukes i oppfinnelsens kombinasjoner.

5 Preparatene som inngår i kombinasjonen kan gis samtidig, adskilt eller over tid slikt at maksimal virkekraft av kombinasjonen oppnås; tilførselen kan dermed ha varierende varighet fra en hurtig tilførsel av den totale dosen til vedvarende inn-sprøytning i åre.

10 Av dette fremgår det slik oppfinnelsen definerer det, at kombinasjonene ikke kun er begrenset til dem som oppnås ved å fysisk kombinere elementene, men også dem som muliggjør adskilt tilførsel enten samtidig eller over tid.

15 Sammensetningene oppfinnelsen gjelder er fortrinnsvis sammensetninger som kan gis parenteralt.

20 Sammensetninger som kan gis parenteralt er som regel farmasøytisk akseptable sterile løsninger eller suspensjoner som eventuelt kan klargjøres like før bruk. Til preparering av ikke-vannbaserte løsninger eller suspensjoner kan man bruke naturlige planteoljer som olivenolje, sesamolje, parafinolje eller injiserbare or-gansike estere som etyloljeat. Vannbaserte sterile løsninger kan fremstilles ved å løse preparatet i vann. Vannbaserte løsninger egner seg til intravenøs tilførsel forutsatt at pH-verdien er riktig tilpasset og at isotonsiteten er kontrollert, for eksempel ved hjelp av tilstrekkelig mengde natriumklorid eller glukose. Sterilise-
25 ring kan utføres ved oppvarming eller på enhver måte som ikke forringer sam-mensetningen. Kombinasjonene kan også finnes som liposomer eller sammen med legemiddelbærere som cyclodekstriner eller polyetylen glykoler.

30 I kombinasjonene ifølge oppfinnelsen der elementene den består av kan gis samtidig, adskilt eller over tid, er det spesielt gunstig at mengden derivat av VEGF Trap representerer mellom 10 % og 80 % av kombinasjonens vekt. Det prosentvise innholdet kan variere avhengig av valgt legemiddelbærer, ønsket virkekraft og hvilken krefttype som skal behandles.

35 Kombinasjonene oppfinnelsen gjelder er særlig nyttige i behandlingen av kreft i tykktarm og/eller magesekk. Kombinasjonene har spesielt den fordel at de

muliggjør bruk av preparatene de består av i betraktelig lavere doser enn dersom disse benyttes isolert.

Eksemplet nedenfor illustrerer en av oppfinnelsens kombinasjoner.

5

EKSEMPEL

10 Etter vanlig fremgangsmåte for subkutan administrasjon, tilberedes ampuller på 1 cm³ som inneholder 25 mg VEGF Trap ved å fortynne dem i en bufferløsning med fosfat 5 mM , natriumsitrat 5 mM , natriumklorid 100 mM, polysorbat 20 og sukrose 20 %. Administrasjonsmengde per mus er 0,1 ml. VEGF Trap gis i en daglig dose på dag 12, 15 og 18 etter implantasjon av tumor.

15 Etter vanlig fremgangsmåte for intravenøs administrasjon, tilberedes 0,3 ml per mus ut fra en variant av irinotekan 20 mg/ml som fortynnes med dekstrose 5 % i vann.

Løsningene gis samtidig etter tilstrekkelig oppløsning.

20

Behandlingen med irinotekan gjentas to ganger daglig med fire timers mellomrom på dag 12, 15 og 18 etter implantasjon av tumor.

Forsøkets resultater vises i vedlagte tabell.

25

Tumorens fordoblingstid = 3,2 dager.

Brukte forkortelser: (T-C) tumorenes vekstforsinkelse, LCK = log av drepte celler.

30

Man har observert toksisitet av irinotekan isolert ved doser på 52,4, 32,5 og 20,2 mg/kg/injeksjon gjennom dødsfall ved dose på 52,4 g og vekttap på over 20 % ved de lavere dosene. Dermed er maksimal tolerert dose av irinotekan 12,5 mg/kg/inj (total injisert dose på 75,0 mg/kg). Dosen på 12,5 mg/kg/injeksjon ble funnet aktiv med en LCK på 1,8.

35

Når det gjelder VEGF Trap, ble preparatet godt tolerert ved samtlige testede doser og funnet aktivt med en LCK på 1,7 ved 40 mg/kg/tilførsel og 25 mg/kg/tilførsel. En dose på mindre enn 10 mg/kg/tilførsel er også aktiv med en LCK på 1,3. Dosen på 5mg/kg/tilførsel er inaktiv.

5

Når det gjelder kombinasjonen hvor dosen irinotekan var på 32,5 mg/kg/inj ble den funnet toksisk uavhengig av dosen med VEGF Trap, med et vekktap på 18 %, nær grensen for toksisitet. Maksimal tolerert dose ble vurdert til mindre enn 20,2 mg/kg/inj med irinotekan kombinert med 40 mg/kg med VEGF Trap. Denne dosen ga en LCK på 3,0 som bedømmes som svært aktiv. Samme aktivitetsgrad ble funnet med lavere doser av VEGF Trap som 25, 10, 2,5 mg/kg/tilførsel (LCK på henholdsvis 2,9, 3,0 og 2,9).

10

12,5 mg/kg/inj med irinotekan kombinert med 40 mg/kg/tilførsel er aktiv med en LCK på 2,7. Den antitumorale aktiviteten opprettholdes med 25 og 10 mg/kg VEGF Trap (LCK på henholdsvis 2,9 og 2,7). Kombinasjonen med 2,5 mg/kg/tilførsel med VEGF Trap har en aktivitet på 2,0 LCK.

15

Konklusjonen er at aktiviteten av VEGF Trap kombinert med irinotekan gir en synergieffekt med en "log cell kill" på 3,0 ved maksimal tolerert dose av kombinasjonen, noe som tilsvarer mer en 1 "log cell kill" sammenlignet med aktiviteten til hver av bestanddelene brukt isolert, med en "log cell kill" på 1,8 og 1,7 (ved henholdsvis 12,5 mg/kg/injeksjon med irinotekan og 40 mg/kg/tilførsel av VEGF Trap). Antitumoral aktivitet opprettholdes flere doseringsnivåer under kombinasjonens maksimalt tolererte dose.

20

25

Gruppe	Agens isolert)	Adm.-måte	Dosering i mg/kg per injeksjon	Skjermai dager	total dose i mg/kg	Død av legemidlet og dødsdag	Musens vekttap (dag med lavest vekt)	Gjennomsnittstid i dager før tumor når en vekt på 750 mg	T-Ci dager	log cell kill	Tumor fri overlevende på dag 144	Kommentarer
6	CPT-11	i.v. 0,3 ml	52.4	12, 15, 18	314.4	1/8 (23)	-27.0 (21)	-	-	-	-	Toksisk
7			32.5	(2x/d)	195.0	0/7	-23.1 (19)	-	-	-	-	Toksisk
8			20.2	{4t senere)	121.2	0/8	-21.9 (19)	-	-	-	-	Toksisk
9			12.5		75.0	0/8	-15.9 (21)	37.6	19.1	1.8	0/8	HNTD (høyeste ikke-toksiske dose) aktiv
2	VEGF Trap	s.k. 0,1 ml	40.0	12,15,18	120.0	0/8	-3.1 (13)	36.8	18.3	1.7	0/8	HDT (høydoseterapi) aktiv
3			25.0		75.0	0/8	-2.2 (13)	36.8	18.3	1.7	0/8	aktiv
4			10.0		30.0	0/8	-5.0 (19)	32.0	18.3	1.3	1/8	aktiv
5			2.5		7.5		-8.3 (19)	20.2	1.7	0.2	018	inaktiv
10	CPT-11 VEGF Trap	i.v. 0,3 ml s.k. 0,1 ml	32.5 40.0	12,15,18 (2x/d) 12,15,18	195.0 120.0	0/8 ^b	-16.2 (21)	-	-	-	-	Toksisk
11			32.5		195.0	0/8	-18.6 (21)	-	-	-	-	Toksisk
12			25.0 32.5		75.0 195.0	0/8	-18.2 (19)	-	-	-	-	Toksisk
13			10.0 32.5		30.0 195.0	0/8	-18.4	-	-	-	-	Toksisk

Patentkrav

1. Kombinasjoner som inneholder VEGF Trap og irinotekan som er av terapeutisk nytte i behandling av neoplastiske sykdommer.
5
2. Kombinasjoner i følge krav 1, **karakteriseres ved at** de inneholder mellom 10 % og 80 % av VEGF Trap i vekt.
3. Preparater som inneholder VEGF Trap og irinotekan, brukt som et kombinert preparat i behandling av neoplastiske sykdommer, enten samtidig, adskilt eller over tid i behandling av kreftsykdommer.
10
4. Kombinasjoner som inneholder VEGF Trap og irinotekan med unntak av et-hvert annet kjemotoksisk derivat som gir terapeutisk synergieffekt i behandling av neoplastiske sykdommer.
15