

TRADUZIONE DEL TESTO DEL BREVETTO EUROPEO N. 2825558

DAL TITOLO:

“Terapia combinata per il trattamento del cancro ovarico”

DEPOSITATA IL:

\*\*\* \*\*

### **DESCRIZIONE**

#### **CAMPO DELL'INVENZIONE**

Questa invenzione riguarda in generale il trattamento di malattie e condizioni patologiche con anticorpi anti-VEGF. Più specificamente, l'invenzione riguarda il trattamento di pazienti umane a rischio o con diagnosi di cancro ovarico utilizzando un anticorpo anti-VEGF, in combinazione con uno o più agenti terapeutici anti-tumorali aggiuntivi.

#### **CONTESTO**

Il cancro ovarico epiteliale, assieme al carcinoma peritoneale primario e al carcinoma delle tube di Falloppio, è la quinta causa più comune di morte correlata a cancro nelle donne in Europa.<sup>1</sup> È anche la neoplasia maligna ginecologica con il più alto tasso di mortalità (Bray F et al. *Ovarian cancer in Europe: Cross-sectional trends in incidence and mortality in 28 countries, 1953-2000*. *Int J Cancer* 113,977-90 (2005); National Comprehensive Cancer Network, *Clinical Practice Guidelines in Oncology: Ovarian cancer v.1* (2008) [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/PDF/ovarian.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/ovarian.pdf). (2008)). Nonostante i miglioramenti nel trattamento del cancro ovarico, gli aumenti della OS sono stati modesti (Chan, J.K. et al. *Patterns and progress in ovarian cancer over 14 years*, *Obstet. Gynecol.* 108, 521-528 (2006); Engel, J. et al. *Moderate progress for ovarian cancer in the last 20 years: prolongation of survival, but no improvement in the cure rate*, *Eur. J Cancer* 38, 2435-2445 (2002)), e pertanto, la mortalità rimane elevata. Ciò è in parte dovuto al fatto che il cancro ovarico frequentemente non viene diagnosticato fino a quando non è progredito in uno stadio avanzato. Il cancro ovarico è considerato una neoplasia chemiosensibile, con tassi di risposta iniziale alla chemioterapia sistemica superiori all'80% quando integrata con chirurgia citoriduttiva primaria (Bookman, M.A. *Developmental chemotherapy and management of recurrent ovarian cancer*. *J. Clin. Oncol.* 21, 149s-167s (2003)). Ciononostante, oltre il 50% delle donne con diagnosi di cancro ovarico epiteliale alla fine va incontro a morte per questa malattia (Harries, M. & Gore, M. *Part I: chemotherapy for epithelial ovarian cancer-treatment at first diagnosis*. *Lancet Oncol.* 3, 529-536 (2002)). I principali studi pubblicati negli ultimi 15 anni riportano che la PFS mediana per pazienti con malattia avanzata varia tra i 16 e i 23

mesi mentre la OS mediana si colloca tra i 31 e i 65 mesi (International Collaborative Ovarian Neoplasm Group. *Paclitaxel plus carboplatin versus standard chemotherapy with either single-agent carboplatin or cyclophosphamide, doxorubicin, and cisplatin in women with ovarian cancer: the ICON3 randomised trial*. Lancet 360, 505-515 (2002); Armstrong,D.K. et al. *Intraperitoneal cisplatin and paclitaxel in ovarian cancer*. N. Engl. J. Med. 354, 34-43 (2006); McGuire,W.P. et al. *Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer*. N. Engl. J. Med. 334, 1-6 (1996); Muggia,F.M. et al. *Phase III randomized study of cisplatin versus paclitaxel versus cisplatin and paclitaxel in patients with suboptimal stage III or IV ovarian cancer: a gynecologic oncology group study*. J. Clin. Oncol. 18, 106-115 (2000); Piccart,M.J. et al. *Randomized intergroup trial of cisplatin-paclitaxel versus cisplatin-cyclophosphamide in women with advanced epithelial ovarian cancer: three-year results*. J. Natl. Cancer Inst. 92, 699-708 (2000)).

La maggior parte delle pazienti che raggiunge una CR con chemioterapia di prima linea alla fine sviluppa una malattia recidivante. Queste pazienti possono essere suddivise in gruppi sensibili al platino o resistenti al platino.<sup>12</sup> Nelle pazienti sensibili al platino, la recidiva si verifica più di 6 mesi dopo la cessazione della chemioterapia iniziale contenente platino.<sup>12</sup> Le terapie a base di platino sono tipicamente utilizzate per ritrattare queste pazienti, alla luce delle risposte clinicamente significative osservate in queste pazienti dopo un secondo trattamento a base di platino. <sup>13</sup> Attualmente non esiste una strategia terapeutica ottimale per le pazienti resistenti al platino la cui malattia si ripresenta entro 6 mesi dal completamento della chemioterapia iniziale a base di platino.<sup>12,14</sup> Nonostante una vasta gamma di trattamenti disponibili, la sopravvivenza prolungata non è stata dimostrata in questo contesto, e l'ORR è generalmente inferiore al 20%.<sup>12,15</sup> Poiché la malattia resistente non è curabile, gli obiettivi del trattamento per queste pazienti includono palliazione dei sintomi, sopravvivenza prolungata e miglioramento della qualità della vita.<sup>13,15,16</sup>

La resistenza al platino è quindi un problema clinico significativo per il quale sono necessari regimi di trattamento migliorati. In particolare, bevacizumab (Avastin®), un anticorpo monoclonale diretto contro il fattore di crescita endoteliale vascolare pro-angiogenico (VEGF), ha un potenziale terapeutico significativo.

#### **SOMMARIO DELL'INVENZIONE**

La presente invenzione fornisce un anticorpo anti-VEGF per l'uso, come definito nelle rivendicazioni, in un procedimento per trattare una paziente con diagnosi di cancro ovarico resistente al platino comprendente la somministrazione a detta paziente di una quantità efficace di un anticorpo anti-VEGF e un chemioterapico, in cui detta paziente ha ricevuto due o meno precedenti regimi anticancro, in cui

detto trattamento prolunga il tempo mediano di sopravvivenza libera da progressione di detta paziente rispetto a una paziente con cancro ovarico resistente al platino che riceve detto chemioterapico da solo. L'anticorpo anti-VEGF è bevacizumab e il chemioterapico è il paclitaxel. Il cancro ovarico resistente al platino è un cancro ovarico epiteliale (EOC), un carcinoma delle tube di Falloppio (FTC) o un carcinoma peritoneale primario (PPC). In una forma di realizzazione, la paziente non è refrattaria al precedente trattamento con platino e/o ha malattia misurabile secondo RECIST 1.0 o malattia valutabile tramite CA-125 secondo i criteri GCIG. In una ulteriore forma di realizzazione, la paziente un performance status ECOG di 0-2 e un'aspettativa di vita di almeno 12 settimane.

In una ulteriore forma di realizzazione, la quantità efficace di detto paclitaxel viene somministrata a 80 mg/m<sup>2</sup> come infusione endovenosa di 1 ora nei giorni 1, 8, 15 e 22 ogni 4 settimane.

In una ulteriore forma di realizzazione, la quantità efficace di detto anticorpo anti-VEGF è di 10 mg/kg per via endovenosa ogni due settimane e la quantità efficace di detto anticorpo anti-VEGF viene somministrata inizialmente per via endovenosa per 90 minuti, con successive infusioni per 60 minuti e poi 30 minuti. In una ulteriore forma di realizzazione, la quantità efficace di detto anticorpo anti-VEGF è di 15 mg/kg per via endovenosa ogni tre settimane, in cui l'anticorpo anti-VEGF viene somministrato inizialmente per via endovenosa per 90 minuti, con successive infusioni per 60 minuti e poi 30 minuti.

In una ulteriore forma di realizzazione, l'anticorpo anti-VEGF viene somministrato prima a detta paziente in corrispondenza del primo ciclo e quindi le successive somministrazioni di detto anticorpo anti-VEGF si verificano prima di o dopo detto chemioterapico. In un'altra forma di realizzazione, l'anticorpo anti-VEGF viene somministrato in concomitanza con detto chemioterapico.

In una ulteriore forma di realizzazione, il tempo mediano di sopravvivenza libera da progressione viene prolungato di circa 3 mesi con un rapporto di rischio (HR) pari a 0,48, rispetto a una paziente con cancro ovarico resistente al platino che riceve detto chemioterapico da solo. In un'altra forma di realizzazione, il tempo mediano di sopravvivenza libera da progressione viene prolungato di almeno 3 mesi o più con un rapporto di rischio (HR) pari a 0,48, rispetto a una paziente con cancro ovarico resistente al platino che riceve detto chemioterapico da solo. In un'altra forma di realizzazione, il tempo mediano di sopravvivenza libera da progressione viene prolungato di almeno 3 mesi o più con un rapporto di rischio (HR) da circa 0,32 a circa 0,57, rispetto a una paziente con cancro ovarico resistente al platino che riceve detto chemioterapico da solo. In un'altra forma di realizzazione, il tempo mediano di sopravvivenza libera da progressione viene prolungato di circa 3 mesi con un rapporto di rischio (HR) da circa 0,32 a circa 0,57, rispetto a una paziente con cancro ovarico resistente al platino che riceve detto chemioterapico da solo. In ancora un'altra forma di realizzazione, il tempo mediano di sopravvivenza

libera da progressione di detta paziente viene prolungato di almeno 6 mesi o più con un rapporto di rischio (HR) di circa 0,46, rispetto a una paziente con cancro ovarico resistente al platino che riceve detto chemioterapico da solo. In ancora un'altra forma di realizzazione nei procedimenti sopra descritti, la paziente ha meno di 65 anni. In ancora un'altra forma di realizzazione nei procedimenti sopra descritti, la paziente ha un'età pari o superiore a 65 anni. In una forma di realizzazione nei procedimenti descritti sopra, la paziente ha un intervallo libero da platino (PFI) inferiore a 3 mesi. In una forma di realizzazione alternativa nei procedimenti descritti sopra, la paziente ha un PFI da 3 a 6 mesi. In una forma di realizzazione la paziente ha ascite addominale. In una forma di realizzazione alternativa la paziente non ha ascite addominale.

In ancora un'altra forma di realizzazione, il trattamento migliora inoltre il tasso di risposta obiettiva (ORR) di detta paziente rispetto a una paziente con cancro ovarico resistente al platino che riceve detto chemioterapico da solo. In una forma di realizzazione, l'ORR è migliorato di almeno 1,5 volte o di almeno 2 volte rispetto a una paziente con cancro ovarico resistente al platino che riceve detto chemioterapico da solo. In ancora un'altra forma di realizzazione, l'ORR è migliorato a circa il 30,9% rispetto a una paziente con cancro ovarico resistente al platino che riceve detto chemioterapico da solo.

La presente descrizione contempla anche un kit comprendente un anticorpo anti-VEGF legante essenzialmente l'epitopo A4.6.1, un chemioterapico e un foglietto illustrativo o etichetta con istruzioni per trattare una paziente con diagnosi di cancro ovarico resistente al platino comprendente la somministrazione a detta paziente di una quantità efficace di un anticorpo anti-VEGF e un chemioterapico, in cui detta paziente ha ricevuto due o meno precedenti regimi anticancro, in cui detto trattamento prolunga il tempo mediano di sopravvivenza libera da progressione di detta paziente rispetto a una paziente con cancro ovarico resistente al platino che riceve detto chemioterapico da solo. In una forma di realizzazione del kit descritto sopra, il cancro ovarico resistente al platino è un cancro ovarico epiteliale (EOC), un carcinoma delle tube di Falloppio (FTC) o un carcinoma peritoneale primario (PPC). In un'altra forma di realizzazione del kit descritto sopra, l'anticorpo anti-VEGF è bevacizumab e detto chemioterapico è selezionato dal gruppo che consiste di paclitaxel, topotecan o una doxorubicina liposomiale pegilata (PLD).

La presente descrizione contempla inoltre un procedimento per promuovere la somministrazione di un anticorpo anti-VEGF legante essenzialmente l'epitopo A4.6.1 e un chemioterapico per trattare il cancro ovarico resistente al platino in una paziente, in cui detta promozione è mediante materiale scritto. In una forma di realizzazione rispetto al procedimento promozionale descritto, l'anticorpo anti-VEGF è bevacizumab e detto chemioterapico è selezionato dal gruppo che consiste di paclitaxel, topotecan o una doxorubicina liposomiale

pegilata (PLD). In un'altra forma di realizzazione rispetto al procedimento promozionale descritto, il materiale scritto è un foglietto illustrativo o etichetta che accompagna una formulazione commerciale di detto anticorpo anti-VEGF e detto chemioterapico.

#### **BREVE DESCRIZIONE DELLE FIGURE**

La Figura 1 mostra la sequenza di trattamento del progetto di studio di fase III a due bracci come descritto in maggior dettaglio nell'Esempio 1. In entrambi i bracci 1 e 2, vi è una scelta di chemioterapico, paclitaxel, topotecan o PLD. Nel braccio 2, per il bevacizumab, la dose alternativa è di 15 mg/kg ogni tre settimane se il chemioterapico topotecan viene selezionato e somministrato a una dose di 1,25 mg/m<sup>2</sup> su un programma di 1-5/ogni tre settimane.

La Figura 2 mostra l'analisi mediante stratificazione delle pazienti dei risultati di sopravvivenza libera da progressione (PFS) derivanti dallo studio di fase III AURELIA che suddivide le pazienti in sottogruppi in base a diversi fattori di rischio e confronta in quale sottogruppo di pazienti il trattamento combinato con bevacizumab e chemioterapia ha determinato un esito di PFS migliore rispetto al trattamento chemioterapico da solo. CT = chemioterapia; BEV + CT = bevacizumab + chemioterapia; HR = rapporto di rischio non regolato; PFI = intervallo libero da platino come misurato in mesi, in cui mancano complessivamente le informazioni di 8 pazienti.

La figura 3 mostra un riepilogo dei migliori tassi di risposta globale (ORR), come misurati mediante un test del chi quadrato bilaterale con correzione di Schouten, confrontando la percentuale di pazienti che sono state misurate mediante responder a RECIST e/o CA-125, responder soltanto a RECIST e responder soltanto a CA-125 tra i due bracci di trattamento, chemioterapia da sola (CT) come mostrato in ciascun caso come barre grigie-puntinate, rispetto alla combinazione bevacizumab e chemioterapia (BEV + CT) come mostrato in ciascun caso come barre grigie. N mostra il numero di pazienti in ciascun gruppo testato.

#### **DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELLE FORME DI REALIZZAZIONE DELL'INVENZIONE**

##### DEFINIZIONI

Un "agente anti-angiogenesi" o "inibitore di angiogenesi" si riferisce a una sostanza di piccolo peso molecolare, un polinucleotide, un polipeptide, una proteina isolata, una proteina ricombinante, un anticorpo, o loro coniugati o proteine di fusione, che inibisce l'angiogenesi, la vasculogenesi, o una permeabilità vascolare indesiderabile, direttamente o indirettamente. Occorre comprendere che l'agente anti-angiogenesi include quegli agenti che legano e bloccano l'attività angiogenica del fattore angiogenico o del suo recettore. Ad esempio, un agente anti-angiogenesi è un anticorpo o altro antagonista rispetto a un agente angiogenico come definito in tutta la descrizione o noto nella tecnica, ad esempio, tuttavia senza limitazioni, anticorpi contro VEGF-A o il recettore per VEGF-A (ad esempio,

recettore KDR o il recettore Flt-1), VEGF-trap, inibitori anti-PDGFR come Gleevec™ (Imatinib Mesylate). Gli agenti anti-angiogenesi includono anche inibitori nativi dell'angiogenesi, ad esempio angiostatina, endostatina, ecc. Si vedano, ad esempio, Klagsbrun e D'Amore, *Annu. Rev. Physiol.*, 53:217-39 (1991); Streit e Detmar, *Oncogene*, 22:3172-3179 (2003) (ad esempio, nella Tabella 3 viene elencata terapia anti-angiogenica in melanoma maligno); Ferrara e Alitalo, *Nature Medicine* 5:1359-1364 (1999); Tonini et al., *Oncogene*, 22:6549-6556 (2003) (ad esempio, nella Tabella 2 vengono elencati fattori antiangiogenici noti); e Sato. *Int. J. Clin. Oncol.*, 8:200-206 (2003) (ad esempio, nella Tabella 1 vengono elencati agenti anti-angiogenici utilizzati in studi clinici).

Il termine "anticorpo" nel presente documento è usato nel senso più ampio e comprende varie strutture anticorpali, tra cui, tuttavia senza limitazioni, anticorpi monoclonali, anticorpi policlonali, anticorpi multispecifici (ad esempio anticorpi bispecifici), e frammenti di anticorpi purché mostrino l'attività legante l'antigene desiderata.

Il termine "ascite" o ascite addominale si riferisce al fluido che si è accumulato in eccesso nell'addome. In presenza di cancro ovarico, il fluido ascitico spesso contiene cellule cancerose libere che si sono staccate dalle crescite cancerose. La manifestazione di ascite addominale tipicamente indica una malattia più sintomatica e un esito peggiore rispetto a quelle pazienti che non hanno ascite addominale.

Il termine "bevacizumab" si riferisce ad un anticorpo monoclonale anti-VEGF umanizzato ricombinante generato secondo Presta et al. (1997) *Cancer Res.* 57:4593-4599, noto anche come "rhuMab VEGF" o "AVASTIN®". Comprende regioni cornice di IgG1 umana mutata e regioni di determinazione della complementarità leganti l'antigene derivanti dall'anticorpo monoclonale anti-VEGF umano murino A.4.6.1 che blocca il legame del VEGF umano ai suoi recettori. Circa il 93% della sequenza amminoacidica di bevacizumab, includente la maggior parte delle regioni cornice, deriva da IgG1 umana e circa il 7% della sequenza deriva dall'anticorpo murino A4.6.1. bevacizumab si lega allo stesso epitopo dell'anticorpo monoclonale anti-VEGF A4.6.1 prodotto dall'ibridoma ATCC HB 10709.

"CA-125" indica l'antigene tumorale 125 o l'antigene carboidratico 125 è un esame del sangue approvato clinicamente per seguire la risposta al trattamento e predire la prognosi dopo il trattamento. È particolarmente utile per rilevare la recidiva del cancro ovarico. Sebbene sia meglio noto come marcatore per il cancro ovarico, può essere elevato anche in altri cancri, tra cui il cancro dell'endometrio, il cancro delle tube di Falloppio, il cancro del polmone, il cancro della mammella e il cancro gastrointestinale.

I termini "cancro" e "canceroso" si riferiscono a, o descrivono, la condizione fisiologica nei mammiferi che è tipicamente caratterizzata dalla crescita cellulare non regolata. Sono inclusi in questa definizione i cancri benigni e maligni nonché i tumori dormienti o micrometastasi. Esempi di cancro includono, tuttavia senza limitazioni, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma e leucemia. Esempi più

particolari di tali cancro includono, tuttavia senza limitazioni, cancro ovarici, tra cui il cancro ovarico epiteliale (EOC), il carcinoma delle tube di Falloppio (FTC) o il carcinoma peritoneale primario (PPC) o i cancro ovarici resistenti al platino. Altri cancro includono, ad esempio, cancro della mammella, cancro a cellule squamose, cancro del polmone (tra cui cancro del polmone a piccole cellule, cancro del polmone non a piccole cellule, adenocarcinoma del polmone e carcinoma squamoso del polmone), cancro del peritoneo, cancro epatocellulare, cancro gastrico o dello stomaco (tra cui cancro gastrointestinale), cancro pancreatico, glioblastoma, cancro della cervice, cancro del fegato, cancro della vescica, epatoma, cancro del colon, cancro del colon-retto, carcinoma epiteliale o uterino, carcinoma delle ghiandole salivari, cancro del rene o renale, cancro del fegato, cancro della prostata, cancro vulvare, cancro della tiroide, carcinoma epatico e vari tipi di cancro della testa e del collo, nonché linfoma a cellule B (tra cui linfoma non-Hodgkin (NHL) di basso grado/follicolare; NHL linfocitico a piccole cellule (SL); NHL di grado intermedio/follicolare; NHL diffuso di grado intermedio; NHL immunoblastico di grado elevato; NHL linfoblastico di grado elevato; NHL a piccole cellule non clivate di grado elevato; NHL con malattia bulky; linfoma mantellare; linfoma correlato ad AIDS; e macroglobulinemia di Waldenstrom); leucemia linfocitica cronica (CLL); leucemia linfoblastica acuta (ALL); leucemia a cellule capellute; leucemia mieloblastica cronica; e disturbo linfoproliferativo post-trapianto (PTLD), nonché proliferazione vascolare anomala associata a facomatosi, edema (come quello associato ai tumori cerebrali), e sindrome di Meigs.

Un "agente chemioterapico" è un composto chimico utile nel trattamento del cancro. Esempi di agenti chemioterapici includono un composto chimico utile nel trattamento di un cancro. Esempi di agenti chemioterapici includono, ad esempio, paclitaxel o topotecan o doxorubicina liposomiale pegilata (PLD). Altri esempi di agenti chemioterapici includono agenti alchilanti come tiotepa e ciclofosfamide CYTOXAN®; alchilsolfonati come busulfano, improsulfano e piposulfano; aziridine come benzodopa, carboquone, meturedopa e uredopa; etilenimine e metilamelamine, incluse altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamide, trietilentiofosforamide e trimetilomelamina; acetogenine (soprattutto bullatacina e bullatacinone); una camptotecina; briostatina; callistatina; CC-1065 (inclusi i suoi analoghi sintetici adozelesina, carzelesina e bizelesina); criptoficine (in particolare criptoficina 1 e criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (inclusi gli analoghi sintetici, KW-2189 e CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; spongistatina; mostarde azotate quali clorambucile, clornafazina, colofosfamide, estramustina, ifosfamide, mecloretamina, mecloretamina ossido cloridrato, melfalan, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfamide, mostarda di uracile; nitrosouree come carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina e ranimustina; antibiotici come gli antibiotici enediyne (ad esempio calicheamicina, calicheamicina gamma 11, calicheamicina omega 11 (si veda, ad esempio, Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)); dinemicina, tra cui dinemicina A;

bisfosfonati come clodronato; una esperamicina; nonché neocarzinostatin cromoforo e cromofori antibiotici enediyne cromoproteina-correlati), aclacinomisine, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicine, cactinomicina, carabicina, caminomicina, carzinofilina, cromomicine, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-osso-L-norleucina, doxorubicina ADRIAMYCIN® (tra cui morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina e deossidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcellomicina, mitomicine come mitomicina C, acido micofenolico, nogalamicina, olivomicine, peplomicina, potfomicina, puromicina, chelamicina, roxorubicina, streptonigrina, streptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; anti-metaboliti come metotrexato e 5-fluorouracile (5-FU); analoghi dell'acido folico come denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; analoghi delle purine quali fludarabina, 6-mercaptapurina, tiamiprina, tioguanina; analoghi delle pirimidine come ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, dideossiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; androgeni quali calusterone, dromostanolone propionato, epitostanolone, mepitostanolone, testolattone; antisurrenali come amminoglucetide, mitotano, trilostano; reintegratore di acido folico quale acido folinico; aceglatone; aldofosamide glicoside; acido aminolevulinico; eniluracile; amsacrina; bestrabucile; bisantrene; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziqone; elformitina; elliptinio acetato; un epotilone; etoglucide; nitrato di gallio; idrossiurea; lentinano; lonidainina; maitansinoidi come maitansina e ansamitocine; mitoguazone; mitoxantrone; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; phenamet; pirarubicina; loxantrone; acido podofillinico; 2-etilidrazide; procarbazine; complesso polisaccaride PSK® (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); razoxano; rizoxina; sizofirano; spirogermanio; acido tenuazonico; triaziqone; 2,2',2''-triclorotrietilammina; tricoteceni (in particolare tossina T-2, verracurina A, roridina A e anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; mannomustina; mitobronitolo; mitolattolo; pipobromano; gacitosina; arabinoside ("Ara-C"); ciclofosamide; tiotepa; tassoidi, ad esempio, TAXOL® paclitaxel (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), ABRAXANE®, formulazione di nanoparticelle ingegnerizzate con albumina priva di Cremophor, di paclitaxel (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.), e TAXOTERE® docetaxel (Rhone-Poulenc Rorer, Antony, Francia); clorambucile; GEMZAR® gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptapurina; metotrexato; analoghi del platino quali cisplatino, oxaliplatino e carboplatino; vinblastina; platino, etoposide (VP-16); ifosfamide; mitoxantrone; vincristina; NAVELBINE® vinorelbina; novantrone; teniposide; edatrexato; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; irinotecano (Camptosar, CPT-11) (tra cui il regime di trattamento di irinotecano con 5-FU e leucovorin); inibitore della topoisomerasi RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoidi come acido retinoico; capecitabina; combretastatina; leucovorina (LV); oxaliplatino, tra cui il regime di trattamento con oxaliplatino (FOLFOX); lapatinib (Tykerb®); inibitori di PKC-alfa, Raf, H-Ras, EGFR (ad esempio, erlotinib (Tarceva®)) e VEGF-A che riducono la proliferazione

cellulare e sali, acidi o derivati farmaceuticamente accettabili di qualsiasi dei precedenti.

Il termine "in concomitanza" viene usato nel presente documento per riferirsi alla somministrazione di due o più agenti terapeutici, in cui almeno parte della somministrazione si sovrappone nel tempo. Di conseguenza, la somministrazione concomitante include un regime di dosaggio quando la somministrazione di uno o più agenti continua dopo aver interrotto la somministrazione di uno o più altri agenti.

Il termine "quantità efficace" si riferisce a una quantità di un farmaco efficace per trattare una malattia o un disturbo in un mammifero. Nel caso del cancro la quantità terapeuticamente efficace del farmaco può ridurre il numero di cellule cancerose; ridurre la dimensione del tumore; inibire (cioè rallentare in una certa misura e, preferibilmente, arrestare) l'infiltrazione di cellule cancerose negli organi periferici; inibire (cioè rallentare in una certa misura e, preferibilmente, arrestare) la metastasi tumorale; inibire, in una certa misura, la crescita tumorale; e/o alleviare in una certa misura uno o più dei sintomi associati al disturbo. Nella misura in cui il farmaco può prevenire la crescita e/o uccidere le cellule di cancro esistenti, esso può essere citostatico e/o citotossico. Per la terapia del cancro, l'efficacia in vivo, ad esempio, può essere misurata valutando la durata della sopravvivenza, la durata della sopravvivenza libera da progressione (PFS), i tassi di risposta (RR), la durata della risposta e/o la qualità della vita.

L'"epitopo A4.6.1" si riferisce all'epitopo riconosciuto dall'anticorpo anti-VEGF bevacizumab (AVASTIN®) (si veda Muller Y et al., Structure 15 settembre 1998, 6:1153-1167). In alcune forme di realizzazione della descrizione, gli anticorpi anti-VEGF includono, tuttavia senza limitazioni, un anticorpo monoclonale che si lega allo stesso epitopo dell'anticorpo monoclonale anti-VEGF A4.6.1 prodotto dall'ibridoma ATCC HB 10709; un anticorpo monoclonale anti-VEGF umanizzato ricombinante generato secondo Presta et al. (1997) Cancer Res. 57:4593-4599.

Un "anticorpo umano" è un anticorpo che possiede una sequenza amminoacidica che corrisponde a quella di un anticorpo prodotto da un essere umano o una cellula umana o derivato da una fonte non umana che utilizza repertori anticorpali umani o altre sequenze codificanti anticorpi umani. Questa definizione di un anticorpo umano esclude specificamente un anticorpo umanizzato comprendente residui leganti l'antigene non umani.

Un anticorpo "umanizzato" si riferisce a un anticorpo chimerico comprendente residui amminoacidici provenienti da HVR non umane e residui amminoacidici provenienti da FR umane. In determinate forme di realizzazione, un anticorpo umanizzato comprenderà sostanzialmente la totalità di almeno un, e tipicamente di due, domini variabili in cui tutte o sostanzialmente tutte le HVR (ad esempio, le

CDR) corrispondono a quelle di un anticorpo non umano e tutte o sostanzialmente tutte le FR corrispondono a quelle di un anticorpo umano. Un anticorpo umanizzato opzionalmente può comprendere almeno una porzione di una regione costante di anticorpo derivata da un anticorpo umano. Una "forma umanizzata" di un anticorpo, ad esempio, un anticorpo non umano, si riferisce a un anticorpo che è stato sottoposto a un'umanizzazione.

Il termine "regione ipervariabile" o "HVR", come usato nel presente documento, si riferisce a ciascuna delle regioni di un dominio variabile anticorpale che sono ipervariabili per sequenza e/o formano anse strutturalmente definite ("anse ipervariabili"). In generale, gli anticorpi nativi a quattro catene comprendono sei HVR; tre nella VH (H1, H2, H3) e tre nella VL (L1, L2, L3). Le HVR in generale comprendono residui amminoacidici derivanti dalle anse ipervariabili e/o dalle "regioni determinanti la complementarità" (CDR), queste ultime avendo la variabilità di sequenza più elevata e/o essendo coinvolte nel riconoscimento dell'antigene. Anse ipervariabili esemplificative si verificano in corrispondenza dei residui amminoacidici 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) e 96-101 (H3). (Chothia e Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987).) CDR esemplificative (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 e CDR-H3) si verificano in corrispondenza dei residui amminoacidici 24-34 di L1, 50-56 di L2, 89-97 di L3, 31-35B di H1, 50-65 di H2 e 95-102 di H3. (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991).) Con l'eccezione della CDR1 nella VH, le CDR in generale comprendono residui amminoacidici che formano le anse ipervariabili. Le CDR comprendono anche "residui determinanti la specificità," o "SDR," i quali sono residui che entrano a contatto con l'antigene. Gli SDR sono contenuti all'interno di regioni delle CDR chiamate CDR abbreviate, o a-CDR. a-CDR esemplificative (a-CDR-L1, a-CDR-L2, a-CDRL3, a-CDR-H1, a-CDR-H2 e a-CDR-H3) si verificano a livello dei residui aminoacidici 31-34 di L1, 50-55 di L2, 89-96 di L3, 31-35B di H1, 50-58 di H2 e 95-102 di H3. (si veda Almagro e Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008).) Se non diversamente indicato, i residui di HVR e altri residui nel dominio variabile (ad esempio, i residui di FR) vengono numerati nel presente documento secondo Kabat et al., sopra.

Un "individuo" o "soggetto" è un mammifero. I mammiferi includono, tuttavia senza limitazioni, animali domestici (ad esempio, mucche, pecore, gatti, cani e cavalli), primati (ad esempio, esseri umani e primati non umani come le scimmie), conigli e roditori (ad esempio, topi e ratti). In determinate forme di realizzazione, l'individuo o soggetto è un essere umano.

Per i procedimenti della presente descrizione, il termine "istruire" un soggetto significa fornire indicazioni per terapia, medicinali, trattamento, regimi di trattamento applicabili, e simili, con qualsiasi mezzo, ma preferibilmente per iscritto, come sotto forma di foglietti

illustrativi o altro materiale promozionale scritto.

Il termine "infusione endovenosa" si riferisce all'introduzione di un farmaco nella vena di un soggetto animale o umano per un periodo di tempo superiore a circa 5 minuti, preferibilmente tra circa 30 e 90 minuti, sebbene, secondo l'invenzione, l'infusione endovenosa sia in alternativa somministrata per 10 ore o meno.

Il termine "bolo endovenoso" o "push endovenoso" si riferisce alla somministrazione di un farmaco in una vena di un animale o di un essere umano tale che il corpo riceve il farmaco in circa 15 minuti o meno, preferibilmente 5 minuti o meno.

Un anticorpo "isolato" è un anticorpo che è stato separato da un componente del suo ambiente naturale. In alcune forme di realizzazione, un anticorpo è purificato a una purezza superiore al 95% o 99% come determinato, ad esempio, mediante elettroforesi (ad esempio, SDS-PAGE, isoelettrofocalizzazione (IEF), elettroforesi capillare) o cromatografia (ad esempio, scambio ionico o HPLC in fase inversa). Per una rassegna dei procedimenti per la valutazione della purezza dell'anticorpo, si veda, ad esempio, Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007).

Una dose di "mantenimento" si riferisce nel presente documento a una o più dosi di un agente terapeutico somministrate al soggetto per o dopo un periodo di trattamento. Di solito, le dosi di mantenimento vengono somministrate a intervalli di trattamento distanziati, come circa ogni settimana, circa ogni 2 settimane, circa ogni 3 settimane, o circa ogni 4 settimane.

Con "terapia di mantenimento" si intende un regime terapeutico che viene somministrato per ridurre la probabilità di recidiva o progressione della malattia. La terapia di mantenimento può essere fornita per qualsiasi lunghezza di tempo, inclusi periodi di tempo prolungati fino all'intera vita del soggetto. La terapia di mantenimento può essere fornita dopo terapia iniziale o in combinazione con terapie iniziali o aggiuntive. I dosaggi usati per la terapia di mantenimento possono variare e possono includere dosaggi ridotti rispetto ai dosaggi usati per altri tipi di terapia. Si veda anche "mantenimento" nel presente documento.

Il termine "marketing" è usato nel presente documento per descrivere la promozione, la vendita o la distribuzione di un prodotto (ad esempio, farmaco). Il marketing include nello specifico l'imballaggio, la pubblicità e qualsiasi attività commerciale con lo scopo di commercializzare un prodotto.

Con "metastasi" o "metastatico" si intende la diffusione del cancro dal suo sito primario ad altre parti nel corpo. Le cellule cancerose possono staccarsi da un tumore primario, penetrare nei vasi linfatici e sanguigni, circolare attraverso il flusso sanguigno, e crescere in un epicentro distante (metastasi) nei tessuti normali in altre parti del corpo. La metastasi può essere locale o distante. La

metastasi è un processo sequenziale, contingente sulle cellule tumorali che si staccano dal tumore primario, viaggiano attraverso il flusso sanguigno, e si fermano in corrispondenza di un sito distante. In corrispondenza del nuovo sito, le cellule instaurano un apporto di sangue e possono crescere fino a formare una massa pericolosa per la vita. Entrambi i percorsi molecolari stimolatorio e inibitorio all'interno delle cellule tumorali regolano questo comportamento e anche le interazioni tra la cellula tumorale e le cellule ospite nel sito distante sono significative.

Con "monoterapia" si intende un regime terapeutico che include soltanto un singolo agente terapeutico per il trattamento del cancro o del tumore durante il periodo di trattamento. La monoterapia utilizzando un antagonista VEGF-specifico indica che l'antagonista VEGF-specifico viene somministrato in assenza di una terapia anti-cancro aggiuntiva durante il periodo di trattamento.

Il termine "anticorpo monoclonale" come usato nel presente documento indica un anticorpo ottenuto da una popolazione di anticorpi sostanzialmente omogenei, vale a dire i singoli anticorpi comprendenti la popolazione sono identici e/o legano lo stesso epitopo, eccetto possibili anticorpi varianti, ad esempio, contenenti mutazioni naturali o che si generano durante la produzione di una preparazione di anticorpo monoclonale, tali varianti generalmente essendo presenti in quantità minori. A differenza delle preparazioni di anticorpo policlonale, che includono tipicamente anticorpi differenti diretti contro determinanti (epitopi) differenti, ciascun anticorpo monoclonale di una preparazione di anticorpo monoclonale è diretto contro un singolo determinante su un antigene. Pertanto, il modificatore "monoclonale" indica il carattere dell'anticorpo come ottenuto da una popolazione sostanzialmente omogenea di anticorpi e non deve essere interpretato come la necessità di produrre un anticorpo mediante un qualsiasi procedimento specifico. Ad esempio, gli anticorpi monoclonali possono essere preparati attraverso una varietà di tecniche, tra cui, tuttavia senza limitazioni, il procedimento dell'ibridoma, i procedimenti del DNA ricombinante, i procedimenti di esposizione su fago e i procedimenti che utilizzano animali transgenici contenenti tutti i loci immunoglobulinici umani o parte di essi, tali procedimenti e altri procedimenti esemplificativi per preparare anticorpi monoclonali essendo descritti nel presente documento.

Il termine "formulazione farmaceutica" si riferisce ad un preparato che è in forma tale da consentire all'attività biologica di un principio attivo ivi contenuto per essere efficace, e che non contiene componenti aggiuntivi che sono inaccettabilmente tossici per un soggetto al quale viene somministrata la formulazione.

Un "veicolo farmaceuticamente accettabile" si riferisce a un ingrediente in una formulazione farmaceutica, diverso da un principio attivo, che non è tossico per un soggetto. Un veicolo farmaceuticamente accettabile include, tuttavia senza limitazioni, un

tampone, eccipiente, stabilizzatore, o conservante.

"Resistente al platino" indica una progressione della malattia di cancro ovarico entro meno di sei (6) mesi dal completamento di un minimo di quattro (4) cicli di terapia con platino. La data viene calcolata dall'ultima dose somministrata di terapia con platino.

Il termine "intervallo libero da platino" (PFI) indica il tempo trascorso dal completamento della terapia a base di platino. In generale, maggiore è l'intervallo libero da platino, maggiore è la risposta al ritrattamento.

Per i procedimenti della presente descrizione, il termine "promuovere" indica offrire, pubblicizzare, vendere o descrivere un particolare farmaco, combinazione di farmaci o modalità di trattamento, con qualsiasi mezzo, inclusa la scrittura, ad esempio sotto forma di foglietti illustrativi. Promuovere, nel presente documento, si riferisce alla promozione di un agente terapeutico, come un antagonista del VEGF, ad esempio anticorpo anti-VEGF o agente chemioterapico, per un'indicazione, come il trattamento del cancro della mammella, in cui tale promozione è autorizzata dalla Food and Drug Administration (FDA) in quanto è stato dimostrato essere associato ad efficacia terapeutica statisticamente significativa e sicurezza accettabile in una popolazione di soggetti.

"Sopravvivenza libera da progressione (PFS)" si riferisce al tempo dal trattamento (o dalla randomizzazione) alla prima progressione della malattia o alla morte. Ad esempio, è il tempo in cui il soggetto rimane vivo, senza ritorno del cancro, ad esempio, per un periodo di tempo definito come circa 1 mese, circa 2 mesi, circa 3 mesi, circa 4 mesi, circa 5 mesi, circa 6 mesi, circa 7 mesi, circa 8 mesi, circa 9 mesi, circa 1 anno, circa 2 anni, circa 3 anni, ecc., dall'inizio del trattamento o dalla diagnosi iniziale. In un aspetto dell'invenzione, la PFS può essere valutata mediante i Criteri di valutazione della risposta nei tumori solidi (RECIST).

Una "popolazione" di soggetti si riferisce a un gruppo di soggetti affetti da cancro, come in uno studio clinico, o come visto da oncologi in seguito all'approvazione della FDA per una particolare indicazione, come la terapia del cancro della mammella.

Con "soggetto" si indica un mammifero, tra cui, tuttavia senza limitazioni, un mammifero umano o non umano, come un bovino, un equino, un canide, un ovino, o un felino. Preferibilmente, il soggetto è un essere umano. Le pazienti sono, qui, anche soggetti.

"Sopravvivenza" si riferisce al soggetto che rimane vivo e include la sopravvivenza libera da progressione (PFS) e la sopravvivenza globale (OS). La sopravvivenza può essere stimata con il procedimento di Kaplan-Meier, e qualsiasi differenza nella sopravvivenza viene calcolata usando il test dei ranghi logaritmici stratificato.

La "sopravvivenza globale" si riferisce al soggetto che rimane vivo per un periodo di tempo definito, come circa 1 anno, circa 2 anni, circa 3 anni, circa 4 anni, circa 5 anni, circa 10 anni, ecc., dall'inizio del trattamento o dalla diagnosi iniziale. Negli studi su cui si

fonda la presente invenzione l'evento usato per l'analisi della sopravvivenza era la morte per qualsiasi causa.

"Tasso di risposta globale" o "tasso di risposta obiettiva" (ORR): la percentuale di persone che subisce una diminuzione delle dimensioni (o della quantità per i tumori ematici) del cancro per una quantità di tempo minima; l'ORR è la somma dei tassi di risposta completi e parziali.

Con "estendere la sopravvivenza" o "aumentare la probabilità di sopravvivenza" si intende aumentare PFS e/o OS in un soggetto trattato rispetto a un soggetto non trattato (cioè rispetto a un soggetto non trattato con un anticorpo per VEGF) o rispetto a un protocollo di trattamento con controllo, come il trattamento soltanto con l'agente chemioterapico, come quelli utilizzati negli standard di cura per i tumori ovarici, come, ad esempio, paclitaxel, topotecan o PLD. La sopravvivenza è monitorata per almeno circa un mese, circa due mesi, circa quattro mesi, circa sei mesi, circa nove mesi, o almeno circa 1 anno, o almeno circa 2 anni, o almeno circa 3 anni, o almeno circa 4 anni, o almeno circa 5 anni, o almeno circa 10 anni, ecc., dopo l'inizio del trattamento o dopo la diagnosi iniziale.

Il rapporto di rischio (HR) è una definizione statistica per i tassi di eventi. Ai fini dell'invenzione, il rapporto di rischio è definito come la probabilità di un evento nel braccio sperimentale diviso per la probabilità di un evento nel braccio di controllo in qualsiasi momento specifico. Il "rapporto di rischio" nell'analisi della sopravvivenza libera da progressione è un riepilogo della differenza tra due curve di sopravvivenza libera da progressione, che rappresentano la riduzione del rischio di morte in caso di trattamento rispetto al controllo, in un periodo di follow-up.

Come usato nel presente documento, "trattamento" (con le relative variazioni grammaticali quali "trattare" o "trattando") si riferisce all'intervento clinico nel tentativo di alterare il decorso naturale dell'individuo che viene trattato, e può essere eseguito per la profilassi o durante il decorso della patologia clinica. Effetti desiderabili del trattamento includono, tuttavia senza limitazioni, prevenire l'insorgenza o la recidiva della malattia, alleviare i sintomi, ridurre le eventuali conseguenze patologiche dirette o indirette della malattia, prevenire le metastasi, ridurre la velocità di progressione della malattia, migliorare lo stato di malattia o esercitare un effetto palliativo e ottenere la remissione o una prognosi migliore. In alcune forme di realizzazione, gli anticorpi dell'invenzione sono usati per ritardare lo sviluppo di una malattia o per rallentare la progressione di una malattia.

Il termine "regione variabile" o "dominio variabile" si riferisce al dominio di una catena pesante o leggera di un anticorpo che è coinvolto nel legame dell'anticorpo a un antigene. I domini variabili della catena pesante e della catena leggera (VH e VL, rispettivamente) di un anticorpo nativo hanno generalmente strutture simili, ciascun dominio comprendendo quattro regioni cornice conservate (FR) e tre

regioni ipervariabili (HVR). (Si veda, ad esempio, Kindt et al. Kuby Immunology, 6° ed., WH Freeman and Co., pagina 91 (2007).) Un singolo dominio di VH o VL può essere sufficiente per conferire specificità antigene-legante. Inoltre, gli anticorpi che legano un particolare antigene possono essere isolati usando un dominio di VH o VL di un anticorpo che lega l'antigene per sottoporre a screening una libreria di domini di VL o VH complementari, rispettivamente. Si veda, ad esempio, Portolano et al., J. Immunol. 150: 880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991).

Il termine "VEGF" o "VEGF-A" è usato per indicare il fattore di crescita dell'endotelio vascolare umano di 165 amminoacidi e i relativi fattori di crescita dell'endotelio vascolare umani di 121, 145, 189 e 206 amminoacidi, come descritto, ad esempio, da Leung et al. Science, 246:1306 (1989), e Houck et al. Mol. Endocrin., 5:1806 (1991), assieme alle loro forme processate e alleliche presenti in natura. VEGF-A fa parte di una famiglia di geni che include VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F, e PlGF. VEGF-A si lega principalmente a due recettori tirosin-chinasici ad elevata affinità, VEGFR-1 (Flt-1) e VEGFR-2 (Flk-1/KDR), quest'ultimo essendo il principale trasmettitore di segnali mitogenici per le cellule endoteliali vascolari di VEGF-A. Inoltre, la neuropilina-1 è stata identificata come un recettore per isoforme di VEGF-A leganti l'eparina e può svolgere un ruolo nello sviluppo vascolare. Il termine "VEGF" o "VEGF-A" si riferisce anche a VEGF provenienti da specie non umane come topo, ratto o primate. A volte il VEGF da una specie specifica è indicato da termini come hVEGF per VEGF umano o mVEGF per VEGF murino. In genere, VEGF si riferisce a VEGF umano. Il termine "VEGF" è anche usato per riferirsi a forme tronche o frammenti del polipeptide comprendenti gli amminoacidi da 8 a 109 o da 1 a 109 del fattore di crescita dell'endotelio vascolare umano di 165 amminoacidi. Nella domanda, è possibile identificare il riferimento a una qualsiasi di tali forme di VEGF, ad esempio, con "VEGF (8-109)", "VEGF (1-109)" o "VEGF 165." Le posizioni amminoacidiche per un VEGF nativo "tronco" vengono numerate come indicato nella sequenza di VEGF nativo. Ad esempio, la posizione amminoacidica 17 (metionina) nel VEGF tronco nativo è la posizione 17 (metionina) anche nel VEGF nativo. Il VEGF tronco nativo ha affinità di legame per i recettori KDR e Flt-1 paragonabile a quella di VEGF nativo.

Un "anticorpo anti-VEGF" è un anticorpo che si lega al VEGF con sufficiente affinità e specificità. L'anticorpo selezionato avrà normalmente un'affinità di legame per VEGF, ad esempio, l'anticorpo può legare hVEGF con un valore di Kd compreso tra 100 nM e 1 pM. Le affinità anticorpali possono essere determinate mediante un saggio basato su risonanza plasmonica di superficie (come il saggio BIAcore come descritto nella Pubblicazione della domanda PCT n. WO2005/012359); saggio immunoassorbente legato a un enzima (ELISA); e saggio di competizione (ad esempio RIA), ad esempio. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo anti-VEGF dell'invenzione può essere

usato come agente terapeutico nel bersagliare e interferire con malattie o condizioni in cui è implicata l'attività del VEGF. Inoltre, l'anticorpo può essere sottoposto ad altri saggi di attività biologica, ad esempio per valutarne l'efficacia come agente terapeutico. Tali saggi sono noti nella tecnica e dipendono dall'antigene bersaglio e dall'uso previsto per l'anticorpo. Gli esempi includono il saggio di inibizione di HUVEC; i saggi di inibizione della crescita delle cellule tumorali (come descritto in WO 89/06692, ad esempio); citotossicità cellulare anticorpo-dipendente (ADCC) e saggi di citotossicità mediata dal complemento (CDC) (brevetto statunitense n. 5,500,362); e saggi di attività agonistica o ematopoiesi (si veda WO 95/27062). Un anticorpo anti-VEGF di solito non si lega ad altri omologhi VEGF come VEGF-B o VEGF-C, né ad altri fattori di crescita come PlGF, PDGF o bFGF.

Un "antagonista del VEGF" si riferisce a una molecola in grado di neutralizzare, bloccare, inibire, abolire, ridurre o interferire con le attività del VEGF incluso il legame con uno o più recettori per VEGF. Gli antagonisti del VEGF includono anticorpi anti-VEGF e loro frammenti leganti l'antigene, molecole di recettori e derivati che si legano specificamente al VEGF, sequestrandone quindi il legame a uno o più recettori, anticorpi del recettore anti-VEGF e antagonisti del recettore per VEGF come gli inibitori a piccole molecole del VEGFR tirosin-chinasico.

Una "proteina del recettore chimerico per VEGF" è una molecola del recettore per VEGF avente sequenze amminoacidiche derivate da almeno due proteine diverse, almeno una delle quali è una proteina del recettore per VEGF. In alcune forme di realizzazione, la proteina del recettore chimerico per VEGF è in grado di legarsi e inibire l'attività biologica del VEGF.

#### Anticorpi chimerici e umanizzati

In alcune forme di realizzazione, un anticorpo descritto nel presente documento è un anticorpo chimerico. Alcuni anticorpi chimerici sono descritti, ad esempio, nel brevetto statunitense n. 4,816,567; e Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)). In un esempio, un anticorpo chimerico comprende una regione variabile non umana (ad esempio, una regione variabile derivata da un topo, ratto, criceto, coniglio o primate non umano, come ad esempio una scimmia) e una regione costante umana. In un esempio ulteriore, un anticorpo chimerico è un anticorpo "a scambio di classe" in cui la classe o la sottoclasse è stata cambiata da quella dell'anticorpo progenitore. Gli anticorpi chimerici includono loro frammenti leganti l'antigene.

In alcune forme di realizzazione, un anticorpo chimerico è un anticorpo umanizzato. Tipicamente, un anticorpo non umano viene umanizzato per ridurre l'immunogenicità nei confronti degli esseri umani, pur mantenendo la specificità e affinità dell'anticorpo non umano progenitore. Generalmente, un anticorpo umanizzato comprende uno o più domini variabili in cui le HVR, ad esempio, le CDR (o loro

porzioni), sono derivate da un anticorpo non umano, e le FR (o loro porzioni) sono derivate da sequenze anticorpali umane. Un anticorpo umanizzato opzionalmente comprenderà anche almeno una porzione di una regione costante umana. In alcune forme di realizzazione, alcuni residui di FR in un anticorpo umanizzato sono sostituiti con corrispondenti residui di un anticorpo non umano (ad esempio, l'anticorpo da cui sono derivati i residui di HVR), ad esempio, per ripristinare o migliorare la specificità o affinità anticorpale.

Gli anticorpi umanizzati e i procedimenti per realizzarli vengono esaminati, ad esempio, in Almagro e Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008), e sono ulteriormente descritti, ad esempio, in Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); Queen et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); nei brevetti statunitensi nn. 5, 821,337, 7,527,791, 6,982,321, e 7,087,409; Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34 (2005) (che descrive l'innesto di SDR (a-CDR)); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (che descrive il "resurfacing"); Dall'Acqua et al., *Methods* 36:43-60 (2005) (che descrive lo "shuffling di FR"); e Osbourn et al., *Methods* 36:61-68 (2005) e Klimka et al, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (che descrivono l'approccio di "selezione guidata" allo shuffling di FR).

Le regioni cornice umane che possono essere utilizzate per l'umanizzazione includono, tuttavia senza limitazioni: regioni cornice scelte usando il procedimento "best-fit" (si veda, ad esempio, Sims et al., *J. Immunol.*, 151:2296 (1993)); regioni cornice derivate dalla sequenza consenso di anticorpi umani di un particolare sottogruppo di regioni variabili di catena leggera o pesante (si veda, ad esempio, Carter et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992), e Presta et al. *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)); regioni cornice umane mature (somaticamente mutate) o regioni cornice umane di linea germinale (si veda, ad esempio, Almagro e Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); e regioni cornice derivate da librerie di screening di FR (si veda, ad esempio, Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) e Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)).

#### Anticorpi umani

In alcune forme di realizzazione, un anticorpo descritto nel presente documento è un anticorpo umano. Gli anticorpi umani possono essere prodotti utilizzando varie tecniche note nella tecnica. Gli anticorpi umani sono descritti generalmente in van Dijk e van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) e Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008).

Possano essere preparati anticorpi umani somministrando un immunogeno a un animale transgenico che è stato modificato per produrre anticorpi umani intatti o anticorpi intatti con regioni variabili umane in risposta a una esposizione antigenica. Tali animali contengono tipicamente tutti o una porzione dei loci immunoglobulinici umani, che sostituiscono i loci immunoglobulinici endogeni, o che sono presenti extracromosomicamente o integrati casualmente nei cromosomi dell'animale. In tali topi transgenici, i loci immunoglobulinici

endogeni sono stati generalmente inattivati. Per una rassegna di procedimenti per ottenere anticorpi umani da animali transgenici, si veda Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005). Si vedano anche, ad esempio, i brevetti statunitensi nn. 6,075,181 e 6,150,584 che descrivono la tecnologia XENOMOUSE™; il brevetto statunitense n. 5,770,429 che descrive la tecnologia HUMAB®; il brevetto statunitense n. 7,041,870 che descrive la tecnologia K-M MOUSE® e la pubblicazione di domanda di brevetto statunitense n. US 2007/0061900, che descrive la tecnologia VelociMouse®). Le regioni variabili umane di anticorpi intatti generati da tali animali possono essere ulteriormente modificate, ad esempio, mediante combinazione con una differente regione costante umana.

Gli anticorpi umani possono anche essere prodotti tramite procedimenti basati sull'ibridoma. Sono state descritte linee cellulari del mieloma umano e dell'eteromieloma murino-umano per la produzione di anticorpi monoclonali umani. (Si vedano, ad esempio, Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); e Boerner et al., *J. Immunol.*, 147: 86 (1991).) Anticorpi umani generati mediante la tecnologia degli ibridomi di cellule B umane sono descritti anche in Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006). Procedimenti aggiuntivi includono quelli descritti, ad esempio, nel brevetto statunitense n. 7,189,826 (che descrive la produzione di anticorpi IgM umani monoclonali da linee cellulari di ibridoma) e in Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006) (che descrive ibridomi umani-umani). La tecnologia degli ibridomi umani (tecnologia del Trioma) è descritta anche in Vollmers e Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) e in Vollmers e Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3): 185-91 (2005).

Gli anticorpi umani possono essere generati anche isolando sequenze di dominio variabile del clone Fv selezionate da librerie di esposizione su fago di derivazione umana. Tali sequenze di dominio variabile possono quindi essere combinate con un dominio costante umano desiderato. Qui di seguito sono descritte tecniche per selezionare anticorpi umani da librerie di anticorpi.

#### Anticorpi derivati da librerie

Possono venire isolati anticorpi sottoponendo a screening librerie combinatoriali per anticorpi con l'attività desiderata o le attività desiderate. Ad esempio, nella tecnica sono noti vari procedimenti per la generazione di librerie di esposizione su fago e lo screening di tali librerie per gli anticorpi che possiedono le caratteristiche di legame desiderate. Tali procedimenti sono esaminati, ad esempio in Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) e ulteriormente descritti, ad esempio, in McCafferty et al., *Nature* 348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352:624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1992); Marks e Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et

al., J. Mol. Biol. 338 (2):299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340 (5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101 (34): 12467-12472 (2004); e Lee et al., J. Immunol. Methods 284 (1-2): 119-132 (2004).

In alcuni procedimenti di esposizione su fago, repertori di geni VH e VL sono clonati separatamente tramite reazione a catena della polimerasi (PCR) e ricombinati casualmente in librerie fagiche, che possono poi essere sottoposte a screening per un fago legante l'antigene come descritto in Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994). Un fago espone tipicamente frammenti di anticorpi, o come frammenti Fv a catena singola (scFv) o come frammenti Fab. Le librerie da fonti immunizzate forniscono anticorpi a elevata affinità all'immunogeno senza il requisito di costruzione degli ibridomi. In alternativa, il repertorio naive può essere clonato (ad esempio, da essere umano) per fornire una singola fonte di anticorpi per una vasta gamma di antigeni non self e anche self senza alcuna immunizzazione come descritto da Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993). Infine, librerie naive possono anche essere prodotte sinteticamente clonando segmenti V-genici non riarrangiati da cellule staminali, e utilizzando primer PCR contenenti una sequenza casuale per codificare le regioni CDR3 altamente variabili e per ottenere il riarrangiamento *in vitro* come descritto da Hoogenboom e Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992). Pubblicazioni brevettuali che descrivono librerie fagiche di anticorpi umani includono, ad esempio: il brevetto statunitense n. 5,750,373 e le pubblicazioni di brevetto statunitensi nn. 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 e 2009/0002360.

Anticorpi o frammenti di anticorpi isolati da librerie anticorpali umane sono considerati nel presente documento anticorpi umani o frammenti di anticorpi umani.

#### Anticorpi e antagonisti anti-VEGF

L'antigene di VEGF da utilizzare per la produzione di anticorpi anti-VEGF può essere, ad esempio, la molecola di VEGF<sub>165</sub> nonché altre isoforme di VEGF o un loro frammento contenente l'epitopo desiderato. In una forma di realizzazione, l'epitopo desiderato è quello riconosciuto da bevacizumab, che si lega allo stesso epitopo dell'anticorpo monoclonale anti-VEGF A4.6.1 prodotto dall'ibridoma ATCC HB 10709 (noto come "epitopo A.4.6.1" definito nel presente documento). Altre forme di VEGF utili per generare anticorpi anti-VEGF sono evidenti agli esperti della tecnica.

Il VEGF umano è stato ottenuto dapprima sottoponendo a screening una libreria di cDNA preparata da cellule umane, usando il cDNA di VEGF bovino come sonda di ibridazione. Leung et al. (1989) Science, 246:1306. Un cDNA identificato in tal modo codifica per una proteina di 165 amminoacidi avente un'omologia superiore al 95% al VEGF bovino; questa proteina di 165 amminoacidi viene

tipicamente indicata come VEGF umano (hVEGF) o VEGF<sub>165</sub>. L'attività mitogenica del VEGF umano è stata confermata esprimendo il cDNA di VEGF umano in cellule ospiti di mammifero. I terreni condizionati tramite cellule trasfettate con il cDNA di VEGF umano promuovevano la proliferazione di cellule endoteliali capillari, al contrario delle cellule di controllo. Leung et al. (1989) *Science*, supra. Ulteriori sforzi sono stati intrapresi per clonare ed esprimere VEGF tramite tecniche di DNA ricombinante. (Si veda, ad esempio, Ferrara, *Laboratory Investigation* 72:615-618 (1995), e i riferimenti ivi citati).

Il VEGF è espresso in una varietà di tessuti come forme omodimeriche multiple (121, 145, 165, 189 e 206 amminoacidi per monomero) risultanti da splicing alternativo di RNA. Il VEGF<sub>121</sub> è un mitogeno solubile che non lega l'eparina; le forme più lunghe di VEGF legano l'eparina con affinità progressivamente più alta. Le forme leganti l'eparina di VEGF possono essere clivate nella terminazione carbossi dalla plasmina per rilasciare una o più forme diffusibili di VEGF. Il sequenziamento amminoacidico del peptide carbossi-terminale identificato dopo la scissione della plasmina è Arg<sub>110-111</sub>. La proteina "nucleo" ammino-terminale, VEGF (1-110) isolata come omodimero, si lega agli anticorpi monoclonali neutralizzanti (come gli anticorpi indicati come 4.6.1 e 3.2E3.1.1) e alle forme solubili dei recettori per VEGF con affinità simile rispetto all'omodimero intatto di VEGF<sub>165</sub>.

Svariate molecole strutturalmente correlate al VEGF sono state identificate recentemente, tra cui il fattore di crescita della placenta (PlGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D e VEGF-E. Ferrara e Davis-Smyth (1987) *Endocr. Rev.*, supra; Ogawa et al. *J. Biological Chem.* 273:31273-31281 (1998); Meyer et al. *EMBO J.*, 18:363-374 (1999). Un recettore tirosin-chinasico, Flt-4 (VEGFR-3), è stato identificato come recettore per VEGF-C e VEGF-D. Joukov et al. *EMBO. J.* 15:1751 (1996); Lee et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:1988-1992 (1996); Achen et al. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:548-553. È stato dimostrato che il VEGF-C è coinvolto nella regolazione dell'angiogenesi linfatica. Jeltsch et al. *Science* 276:1423-1425 (1997).

Sono stati identificati due recettori per VEGF, Flt-1 (chiamato anche VEGFR-1) e KDR (chiamato anche VEGFR-2). Shibuya et al. (1990) *Oncogene* 8:519-527; de Vries et al. (1992) *Science* 255:989-991; Terman et al. (1992) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 187:1579-1586. È stato dimostrato che la neuropilina-1 è un recettore selettivo per VEGF, in grado di legare le isoforme di VEGF leganti l'eparina (Soker et al. (1998) *Cell* 92:735-45).

Gli anticorpi anti-VEGF che sono utili nei procedimenti della descrizione includono qualsiasi anticorpo, o suo frammento legante l'antigene, che si lega con sufficiente affinità e specificità a VEGF e può ridurre o inibire l'attività biologica di VEGF. Un anticorpo anti-VEGF di solito non si lega ad altri omologhi VEGF come VEGF-B o VEGF-C, né ad altri fattori di crescita come PlGF, PDGF o bFGF.

In alcune forme di realizzazione della descrizione, gli anticorpi anti-VEGF includono, tuttavia senza limitazioni, un anticorpo monoclonale che si lega allo stesso epitopo dell'anticorpo monoclonale anti-VEGF A4.6.1 prodotto dall'ibridoma ATCC HB 10709; un anticorpo monoclonale anti-VEGF umanizzato ricombinante generato secondo Presta et al. (1997) Cancer Res. 57:4593-4599. Secondo l'invenzione, l'anticorpo anti-VEGF è "bevacizumab (BV)", noto anche come "rhUMAb VEGF" o "AVASTIN®". Comprende regioni cornice di IgG1 umana mutata e regioni di determinazione della complementarità leganti l'antigene derivanti dall'anticorpo monoclonale anti-hVEGF murino A.4.6.1 che blocca il legame del VEGF umano ai suoi recettori. Circa il 93% della sequenza amminoacidica di bevacizumab, inclusa gran parte delle regioni cornice, viene derivato da IgG1 umana e circa il 7% della sequenza viene derivato dall'anticorpo murino A4.6.1.

Bevacizumab (AVASTIN®) è stata la prima terapia anti-angiogenesi approvata dalla FDA ed è approvata per il trattamento di cancro del colon-retto metastatico (trattamento di prima e seconda linea in combinazione con chemioterapia a base di 5-FU per via endovenosa), cancro del polmone avanzato non squamoso non a piccole cellule (NSCLC) (trattamento di prima linea di NSCLC non resecabile, localmente avanzato, recidivo o metastatico in associazione con carboplatino e paclitaxel) e cancro della mammella HER2-negativo metastatico (cancro della mammella HER2-negativo metastatico precedentemente non trattato in combinazione con paclitaxel).

Bevacizumab e altri anticorpi anti-VEGF umanizzati sono ulteriormente descritti nel brevetto statunitense n. 6,884,879 concesso il 26 febbraio 2005. Anticorpi aggiuntivi includono gli anticorpi di serie G6 o B20 (ad esempio G6-31, B20-4.1), come descritto nella Pubblicazione PCT n. WO2005/012359, nella Pubblicazione PCT n. WO2005/044853 e nella domanda di brevetto statunitense 60/991,302, il contenuto di queste domande di brevetto è espressamente incorporato nel presente documento per riferimento. Per anticorpi aggiuntivi si vedano i brevetti statunitensi nn. 7,060,269, 6,582,959, 6,703,020; 6,054,297; WO98/45332; WO 96/30046; WO94/10202; EP 0666868B1; le pubblicazioni di domanda di brevetto statunitense nn. 2006009360, 20050186208, 20030206899, 20030190317, 20030203409 e 20050112126; e Popkov et al., Journal of Immunological Methods 288:149-164 (2004). Altri anticorpi includono quelli che si legano a un epitopo funzionale su VEGF umano comprendenti i residui F17, M18, D19, Y21, Y25, Q89, I191, K101, E103 e C104 o, in alternativa, comprendenti i residui F17, Y21, Q22, Y25, D63, I83 e Q89.

In una forma di realizzazione dell'invenzione, l'anticorpo anti-VEGF ha una regione variabile della catena leggera comprendente la seguente sequenza amminoacidica:

DIQMTQSPSS LSASVGDRVITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIIYF

TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLLISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIKR . (SEQ ID NO: 1)

e una regione variabile della catena pesante comprendente la seguente sequenza amminoacidica:

TAVYYCAKYP HYYGSSHWYF DVWGQGTLVT VSS (SEQ ID NO:2)

Un "anticorpo della serie G6" è un anticorpo anti-VEGF che è derivato da una sequenza di un anticorpo di G6 o anticorpo derivato da G6 secondo una qualsiasi delle figure 7, 24-26 e 34-35 della pubblicazione PCT n. WO2005/012359, la cui descrizione completa è espressamente incorporata nel presente documento per riferimento. Si veda anche la pubblicazione PCT n. WO2005/044853, la cui descrizione completa è espressamente incorporata nel presente documento per riferimento. In una forma di realizzazione, l'anticorpo della serie G6 si lega a un epitopo funzionale su VEGF umano comprendente i residui F17, Y21, Q22, Y25, D63, I83 e Q89.

Un "anticorpo della serie B20" è un anticorpo anti-VEGF che è derivato da una sequenza dell'anticorpo di B20 o un anticorpo derivato da B20 secondo una qualsiasi delle figure 27-29 della pubblicazione PCT n. WO2005/012359, la cui descrizione completa è espressamente incorporata nel presente documento per riferimento. Si vedano anche la pubblicazione PCT n. WO2005/044853 e la domanda di brevetto statunitense 60/991,302, il contenuto di queste domande di brevetto è espressamente incorporato nel presente documento per riferimento. In una forma di realizzazione, l'anticorpo della serie B20 si lega a un epitopo funzionale su VEGF umano comprendente i residui F17, M18, D19, Y21, Y25, Q89, I91, K101, E103 e C104.

Un "epitopo funzionale" si riferisce a residui amminoacidici di un antigene che contribuiscono energeticamente al legame di un anticorpo. La mutazione di uno qualsiasi dei residui dell'antigene che contribuiscono energeticamente (ad esempio, mutazione di VEGF di tipo selvatico mediante alanina o mutazione di omologo) interrompe il legame dell'anticorpo in modo tale che il rapporto di affinità relativa (VEGF IC50 mutante/VEGF IC50 di tipo selvatico) dell'anticorpo sarà maggiore di 5 (si veda l'Esempio 2 di WO2005/012359). In una forma di realizzazione, il rapporto di affinità relativa è determinato da un ELISA di esposizione su fago che lega la soluzione. In breve, immunoplastre (NUNC) Maxisorp a 96 pozzetti sono rivestite per tutta la notte a 4 gradi. C con una forma Fab dell'anticorpo da testare a una concentrazione di 2 ug/ml in PBS e bloccato con PBS, 0,5% BSA e 0,05% Tween20 (PBT) per 2 ore a temperatura ambiente. Diluizioni seriali del fago che espone mutazioni puntiformi di alanina di hVEGF (residui di forma 8-109) o hVEGF di tipo selvatico (8-109) in PBT vengono prima incubate sulle piastre rivestite con Fab per 15 minuti a temperatura ambiente e le piastre vengono lavate con PBS, 0,05% Tween20 (PBST). Il fago legato viene rilevato con un coniugato di anticorpo monoclonale anti-M13 e perossidasi di rafano (Amersham Pharmacia) diluito 1:5000 in PBT, sviluppato con substrato di 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB, Kirkegaard & Perry Labs, Gaithersburg,

Md.) per circa 5 minuti, smorzato con 1,0 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> e letto spettrofotometricamente a 450 nm. Il rapporto dei valori IC<sub>50</sub> (IC<sub>50</sub>, ala/IC<sub>50</sub>, peso) rappresenta le volte di riduzione dell'affinità di legame (l'affinità di legame relativa).

#### Molecole del recettore per VEGF

I due recettori per VEGF meglio caratterizzati sono VEGFR1 (noto anche come Flt-1) e VEGFR2 (noto anche come KDR e FLK-1 per l'omologo murino). La specificità di ciascun recettore per ciascun membro della famiglia VEGF varia ma il VEGF-A si lega sia a Flt-1 sia a KDR. Sia Flt-1 sia KDR appartengono alla famiglia dei recettori tirosin-chinasici (RTK). Gli RTK comprendono una grande famiglia di recettori transmembrana con diverse attività biologiche. Sono state identificate almeno diciannove (19) sottofamiglie di RTK distinte. La famiglia dei recettori tirosin-chinasici (RTK) include i recettori che sono cruciali per la crescita e la differenziazione di una varietà di tipi di cellule (Yarden e Ullrich (1988) *Ann. Rev. Biochem.* 57:433-478; Ullrich e Schlessinger (1990) *Cell* 61:243-254). La funzione intrinseca degli RTK viene attivata dal legame con il ligando, che determina la fosforilazione del recettore e substrati cellulari multipli, e successivamente una varietà di risposte cellulari (Ullrich & Schlessinger (1990) *Cell* 61:203-212). Pertanto, la trasduzione del segnale mediata dal recettore tirosin-chinasico è iniziata dall'interazione extracellulare con un fattore di crescita specifico (ligando), tipicamente seguita dalla dimerizzazione del recettore, dalla stimolazione dell'attività della tirosin-chinasi della proteina intrinseca e dalla trans-fosforilazione del recettore. I siti di legame vengono quindi creati per le molecole di trasduzione del segnale intracellulare e portano alla formazione di complessi con uno spettro di molecole di segnalazione citoplasmatiche che facilitano l'appropriata risposta cellulare (ad esempio, divisione cellulare, differenziazione, effetti metabolici, cambiamenti nel microambiente extracellulare), si veda Schlessinger e Ullrich (1992) *Neuron* 9:1-20. Strutturalmente, sia Flt-1 sia KDR hanno sette domini simil-immunoglobulina nel dominio extracellulare, una singola regione transmembrana e una sequenza di tirosin-chinasi di consenso che viene interrotta da un dominio di inserimento della chinasi. Matthews et al. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:9026-9030; Terman et al. (1991) *Oncogene* 6:1677-1683. Il dominio extracellulare è coinvolto nel legame del VEGF e il dominio intracellulare è coinvolto nella trasduzione del segnale.

Le molecole dei recettori per VEGF, o loro frammenti, che si legano specificamente al VEGF possono essere usate per legare e sequestrare la proteina VEGF, impedendole così di segnalare. In alcune forme di realizzazione, la molecola del recettore per VEGF, o suo frammento legante VEGF, è una forma solubile, come sFlt-1. Una forma solubile del recettore esercita un effetto inibitorio sull'attività biologica della proteina VEGF legandosi al VEGF, impedendo così di legarsi ai suoi recettori naturali presenti sulla superficie delle cellule bersaglio. Sono anche incluse le proteine di fusione del recettore per VEGF, i cui esempi sono descritti di seguito.

Una proteina del recettore chimerico per VEGF è una molecola del recettore avente sequenze amminoacidiche derivate da almeno due diverse proteine, almeno una delle quali è una proteina del recettore per VEGF (ad esempio, il recettore flt-1 o KDR), che è in grado di legarsi e inibire l'attività biologica del VEGF. In alcune forme di realizzazione, le proteine del recettore chimerico per VEGF consistono di sequenze amminoacidiche derivate da soltanto due diverse molecole del recettore per VEGF; tuttavia, sequenze amminoacidiche comprendenti uno, due, tre, quattro, cinque, sei o tutti i sette domini Ig-simili della regione extracellulare legante il ligando del recettore flt-1 e/o KDR possono essere collegate a sequenze amminoacidiche di altre proteine non correlate, ad esempio, sequenze di immunoglobuline. Altre sequenze amminoacidiche a cui sono combinati domini Ig-simili saranno facilmente evidenti agli esperti della tecnica. Esempi di proteine del recettore chimerico per VEGF includono, ad esempio, Flt-1/Fc solubile, KDR/Fc o FLt -1/KDR/Fc (noto anche come trappola di VEGF). (Si veda ad esempio la pubblicazione della domanda PCT n. WO97/44453).

Una proteina del recettore solubile per VEGF o proteine del recettore chimerico per VEGF includono proteine del recettore per VEGF che non sono fissate alla superficie delle cellule attraverso un dominio transmembrana. Pertanto, le forme solubili del recettore per VEGF, tra cui le proteine del recettore chimerico, sebbene siano in grado di legarsi e di inattivare il VEGF, non comprendono un dominio transmembrana e quindi generalmente non si associano alla membrana cellulare delle cellule in cui è espressa la molecola.

#### Usi terapeutici e composizioni

L'invenzione comprende la terapia anti-angiogenesi, una nuova strategia di trattamento del cancro volta ad inibire lo sviluppo dei vasi sanguigni tumorali necessari per fornire nutrienti per supportare la crescita del tumore. Poiché l'angiogenesi è coinvolta sia nella crescita tumorale primaria sia nella metastasi, il trattamento anti-angiogenesi fornito dall'invenzione è in grado di inibire la crescita neoplastica del tumore in corrispondenza del sito primario e di prevenire la metastasi dei tumori in corrispondenza dei siti secondari, consentendo quindi l'attacco dei tumori mediante altri agenti terapeutici.

Nello specifico, nel presente documento vengono forniti mezzi, come definiti nelle rivendicazioni, per trattare un soggetto con diagnosi di cancro ovarico resistente al platino, comprendente la somministrazione al soggetto di un regime di trattamento che combina una quantità efficace di paclitaxel e bevacizumab. Inoltre, il soggetto non è refrattario al trattamento precedente del cancro ovarico e aveva ricevuto solo due o meno regimi anticancro precedenti. Il regime di trattamento che combina la chemioterapia e la somministrazione dell'anticorpo anti-VEGF prolunga la sopravvivenza libera da progressione (PFS) del soggetto.

#### Terapie combinate

Come definito nelle rivendicazioni, l'invenzione presenta l'uso di una combinazione di un anticorpo anti-VEGF con una o più terapie anticancro aggiuntive, tra cui il paclitaxel. Esempi di terapie anticancro includono, senza limitazioni, interventi chirurgici, terapia con radiazioni (radioterapia), bioterapia, immunoterapia, chemioterapia, o una combinazione di queste terapie. In aggiunta, agenti citotossici, agenti anti-angiogenici e anti-proliferativi possono essere utilizzati in combinazione con l'anticorpo anti-VEGF.

Soggetta ai requisiti dell'invenzione come definita nelle rivendicazioni, una varietà di agenti chemioterapici può essere usata nel trattamento combinato dell'invenzione. Un elenco esemplificativo e non limitativo di agenti chemioterapici contemplati viene fornito nel presente documento in "Definizione", o descritto nel presente documento.

In un esempio, il trattamento combinato contemplato sopra implica la somministrazione che include somministrazione simultanea, usando formulazioni separate o una singola formulazione farmaceutica, e la somministrazione consecutiva in qualsiasi ordine, in cui preferibilmente vi è un periodo di tempo in cui entrambi (o tutti) i principi attivi esercitano simultaneamente le loro attività biologiche. I programmi di preparazione e dosaggio per tali agenti chemioterapici possono essere utilizzati secondo le istruzioni dei produttori o come determinato empiricamente dal medico esperto. I programmi di preparazione e dosaggio per la chemioterapia sono anche descritti in Chemotherapy Service Ed., M. C. Perry, Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (1992). L'agente chemioterapico può precedere o seguire la somministrazione dell'anticorpo anti-VEGF o può essere somministrato simultaneamente ad esso.

In alcuni altri aspetti dell'invenzione, altri agenti terapeutici utili per la terapia tumorale combinata con l'anticorpo dell'invenzione includono antagonista di altri fattori che sono coinvolti nella crescita tumorale, come EGFR, ErbB3, ErbB4, o TNF. Talvolta, può essere vantaggioso somministrare anche una o più citochine al soggetto. In una forma di realizzazione, l'anticorpo anti-VEGF è co-somministrato con un agente inibitore della crescita. Ad esempio, l'agente inibitore della crescita può essere somministrato per primo, seguito dall'anticorpo anti-VEGF. Tuttavia, è anche contemplata la somministrazione simultanea o la somministrazione dell'anticorpo anti-VEGF per primo. I dosaggi idonei per l'agente inibitore della crescita sono quelli utilizzati attualmente, e possono essere ridotti grazie all'azione combinata (sinergia) dell'agente inibitore della crescita e dell'anticorpo anti-VEGF.

La formulazione nel presente documento può anche contenere più di un composto attivo come necessario per la particolare indicazione che viene trattata, preferibilmente quelli con attività complementari che non si influenzano negativamente a vicenda. Ad esempio, può essere desiderabile fornire inoltre anticorpi che si legano a EGFR, VEGF (ad esempio un anticorpo che lega un epitopo diverso o lo stesso epitopo su VEGF), VEGFR o ErbB2 (ad esempio, Herceptin®) in un'unica formulazione. In alternativa, o in aggiunta, la

composizione può comprendere un agente chemioterapico, o un agente citotossico. Convenientemente, tali molecole sono presenti in combinazione in quantità che sono efficaci per lo scopo previsto.

In alcuni aspetti dell'invenzione, altri agenti terapeutici utili per la terapia del cancro combinata con l'anticorpo dell'invenzione includono altri agenti anti-angiogenesi. Molti agenti anti-angiogenesi sono stati identificati e sono noti nelle tecniche, inclusi quelli elencati da Carmeliet e Jain (2000). In una forma di realizzazione, l'anticorpo anti-VEGF dell'invenzione è usato in combinazione con un altro antagonista del VEGF o un antagonista del recettore per VEGF come varianti di VEGF, frammenti di recettori solubili per VEGF, aptameri in grado di bloccare VEGF o VEGFR, anticorpi neutralizzanti anti-VEGFR, inibitori a basso peso molecolare di VEGFR tirosin-chinasici e qualsiasi loro combinazione. In alternativa, o in aggiunta, due o più anticorpi anti-VEGF possono essere co-somministrati al soggetto.

Per la prevenzione o il trattamento della malattia, il dosaggio appropriato dell'antagonista VEGF-specifico dipende dal tipo di malattia da trattare, come definito sopra, dalla gravità e dal decorso della malattia, indipendentemente dal fatto che l'antagonista VEGF-specifico sia somministrato a scopi preventivi o terapeutici, dalla terapia precedente, dalla storia clinica del soggetto e dalla risposta all'antagonista VEGF-specifico e dalla discrezione del medico curante. L'antagonista VEGF-specifico viene adeguatamente somministrato alla paziente in una sola volta o nel corso di una serie di trattamenti. In un regime terapeutico combinato, l'antagonista VEGF-specifico e l'uno o più agenti terapeutici anti-cancro dell'invenzione sono somministrati in una quantità terapeuticamente efficace o sinergica. Come usata nel presente documento, una quantità terapeuticamente efficace è tale che la co-somministrazione di un antagonista VEGF-specifico e uno o più altri agenti terapeutici, o la somministrazione di una composizione dell'invenzione, determina riduzione o inibizione del cancro come descritto sopra. Una quantità terapeuticamente sinergica è quella quantità di un antagonista VEGF-specifico e uno o più altri agenti terapeutici necessaria per ridurre o eliminare sinergicamente o significativamente condizioni o sintomi associati a una particolare malattia.

L'antagonista VEGF-specifico e l'uno o più altri agenti terapeutici possono essere somministrati simultaneamente o sequenzialmente in una quantità e per un tempo sufficiente a ridurre o eliminare l'insorgenza o la recidiva di un tumore, un tumore dormiente o una micrometastasi. L'antagonista VEGF-specifico e l'uno o più altri agenti terapeutici possono essere somministrati come terapia di mantenimento per prevenire o ridurre la probabilità di recidiva del tumore.

Come comprenderanno gli esperti della tecnica, le dosi appropriate di agenti chemioterapici o altri agenti anti-cancro saranno generalmente all'incirca quelli già impiegati nelle terapie cliniche, ad esempio, in cui i chemioterapici sono somministrati da soli o in combinazione con altri chemioterapici. Probabilmente si verificherà una variazione del dosaggio a seconda della condizione che viene

trattata. Il medico che somministra il trattamento sarà in grado di determinare la dose appropriata per il singolo soggetto.

In aggiunta ai precedenti regimi terapeutici, il soggetto può essere sottoposto a radioterapia.

In alcune forme di realizzazione dell'invenzione, l'anticorpo anti-VEGF somministrato è un anticorpo intatto, nudo. Tuttavia, l'anticorpo anti-VEGF può essere coniugato con un agente citotossico. In alcune forme di realizzazione di uno qualsiasi dei procedimenti e usi, l'anticorpo coniugato e/o l'antigene a cui è legato è/sono interiorizzato/i dalla cellula, determinando efficacia terapeutica aumentata del coniugato nella soppressione della cellula cancerosa a cui si lega. In una forma di realizzazione, l'agente citotossico bersaglia o interferisce con l'acido nucleico nella cellula cancerosa. Esempi di tali agenti citotossici includono maitansinoidi, calicheamicine, ribonucleasi ed endonucleasi di DNA.

La descrizione presenta anche un procedimento per istruire un soggetto umano con cancro ovarico resistente al platino o un professionista sanitario fornendo istruzioni per ricevere il trattamento con un anticorpo anti-VEGF in combinazione con un agente chemioterapico e uno o più altri agenti terapeutici in modo da aumentare il tempo di sopravvivenza libera da progressione, per ridurre il rischio di recidiva del cancro del soggetto o per aumentare la probabilità di sopravvivenza del soggetto. In alcune forme di realizzazione il procedimento comprende inoltre fornire istruzioni per ricevere il trattamento con almeno un agente chemioterapico. Il trattamento con l'anticorpo anti-VEGF può essere concomitante o sequenziale rispetto al trattamento con l'agente chemioterapico. In alcune forme di realizzazione il soggetto è trattato secondo le istruzioni del procedimento di istruzione. Il trattamento del cancro ovarico resistente al platino mediante la somministrazione di un anticorpo anti-VEGF con o senza chemioterapia può essere continuato fino alla recidiva del cancro o alla morte.

La descrizione fornisce inoltre un procedimento promozionale, comprendente la promozione della somministrazione di un anticorpo anti-VEGF e uno o più altri agenti terapeutici per il trattamento del cancro ovarico resistente al platino in un soggetto umano. In alcune forme di realizzazione il procedimento comprende inoltre la promozione della somministrazione di almeno un agente chemioterapico. La somministrazione dell'anticorpo anti-VEGF può essere concomitante o sequenziale rispetto alla somministrazione dell'agente chemioterapico. La promozione può essere condotta con qualsiasi mezzo disponibile. In alcune forme di realizzazione la promozione è mediante un foglietto illustrativo che accompagna una formulazione commerciale dell'anticorpo anti-VEGF. La promozione può anche avvenire mediante un foglietto illustrativo che accompagna una formulazione commerciale dell'agente chemioterapico. La promozione può avvenire tramite comunicazione scritta o orale a un medico o professionista sanitario. In alcune forme di realizzazione la

promozione avviene mediante un foglietto illustrativo in cui il foglietto illustrativo fornisce istruzioni per ricevere terapia per il cancro ovarico resistente al platino con anticorpo anti-VEGF in combinazione con uno o più altri agenti terapeutici. In una ulteriore forma di realizzazione, il foglietto illustrativo include alcuni o tutti i risultati dell'esempio 1. In alcune forme di realizzazione la promozione è seguita dal trattamento del soggetto con l'anticorpo anti-VEGF con l'agente chemioterapico.

La descrizione fornisce un procedimento commerciale, comprendente la commercializzazione di un anticorpo anti-VEGF in combinazione con uno o più altri agenti terapeutici per il trattamento del cancro ovarico resistente al platino in un soggetto umano in modo da aumentare il tempo di sopravvivenza libera da progressione del soggetto, per diminuire la probabilità di recidiva del cancro del soggetto o aumentare la probabilità di sopravvivenza del soggetto. In alcune forme di realizzazione il procedimento comprende inoltre la commercializzazione di un agente chemioterapico per l'uso in combinazione con l'anticorpo anti-VEGF. In alcune forme di realizzazione la commercializzazione è seguita dal trattamento del soggetto con l'anticorpo anti-VEGF con l'agente chemioterapico.

Viene anche descritto un procedimento commerciale, comprendente la commercializzazione di un agente chemioterapico in combinazione con un anticorpo anti-VEGF per il trattamento del cancro ovarico, in particolare i cancri ovarici resistenti al platino, in un soggetto umano in modo da aumentare il tempo di sopravvivenza libera da progressione del soggetto, per diminuire la probabilità di recidiva del cancro del soggetto o aumentare la probabilità di sopravvivenza del soggetto. In alcune forme di realizzazione, la commercializzazione è seguita dal trattamento del soggetto con la combinazione dell'agente chemioterapico e dell'anticorpo anti-VEGF.

#### Dosaggi e durata

L'invenzione viene formulata, dosata e somministrata in modo coerente con la buona pratica medica. I fattori da prendere in considerazione in questo contesto includono il particolare disturbo che viene trattato, il particolare soggetto che viene trattato, la condizione clinica del singolo soggetto, la causa del disturbo, il sito di rilascio dell'agente, il procedimento di somministrazione, il programma delle somministrazioni e altri fattori noti agli operatori sanitari. La "quantità terapeuticamente efficace" dell'invenzione da somministrare sarà regolata da tali considerazioni, ed è la quantità minima necessaria per prevenire, migliorare, trattare o stabilizzare il cancro; aumentare il tempo fino alla progressione (durata della sopravvivenza libera da progressione) o trattare o prevenire l'insorgenza o la recidiva di un tumore, un tumore dormiente o una micrometastasi. L'antagonista VEGF-specifico non deve necessariamente essere, ma è facoltativamente, formulato con uno o più agenti attualmente utilizzati per prevenire o trattare il cancro o un rischio di sviluppare il cancro. La quantità efficace di tali altri agenti dipende dalla quantità dell'antagonista VEGF-specifico presente nella formulazione, dal tipo di disturbo o di

trattamento e da altri fattori precedentemente analizzati. Questi sono generalmente utilizzati negli stessi dosaggi e con le vie di somministrazione utilizzati in precedenza o dall'1 al 99% circa dei dosaggi finora impiegati.

A seconda del tipo e della gravità della malattia, circa da 1 ug/kg a 100 mg/kg (ad esempio 0,1-20 mg/kg) dell'anticorpo anti-VEGF come dosaggio candidato iniziale per la somministrazione al soggetto, ad esempio, tramite una o più somministrazioni separate, oppure mediante infusione continua. In una forma di realizzazione, i dosaggi desiderabili includono, ad esempio, 6 mg/kg, 8 mg/kg, 10 mg/kg e 15 mg/kg. Per somministrazioni o cicli ripetuti per diversi giorni o più, a seconda della condizione, il trattamento viene prolungato fino a quando il tumore non viene trattato, come misurato mediante i procedimenti sopra descritti o noti nella tecnica. Possono essere tuttavia utili altri regimi di dosaggio. In un esempio, l'anticorpo anti-VEGF viene somministrato una volta ogni settimana, ogni due settimane o ogni tre settimane, ad un intervallo di dose da circa 6 mg/kg a circa 15 mg/kg, incluso tuttavia senza limitazioni, a 6 mg/kg, 8 mg/kg, 10 mg/kg o 15 mg/kg. I progressi della terapia dell'invenzione sono facilmente monitorati mediante saggi e tecniche convenzionali. In altre forme di realizzazione, tale regime di dosaggio viene usato in combinazione con un regime chemioterapico nei tumori ovarici resistenti al platino. Ulteriori informazioni sui dosaggi idonei sono fornite nell'esempio 1 di seguito.

La durata della terapia continuerà per tutto il tempo indicato dal medico o fino a quando non si raggiungerà l'effetto terapeutico desiderato (ad esempio quelli descritti nel presente documento). In alcune forme di realizzazione, la terapia rivendicata viene continuata per 1 mese, 2 mesi, 4 mesi, 6 mesi, 8 mesi, 10 mesi, 1 anno, 2 anni, 3 anni, 4 anni, 5 anni, o per un periodo di anni fino all'intera la vita del soggetto.

Gli antagonisti VEGF-specifici dell'invenzione vengono somministrati a un soggetto, ad esempio un soggetto umano, secondo procedimenti noti, come la somministrazione endovenosa in bolo o per infusione continua per un periodo di tempo, mediante somministrazione intramuscolare, intraperitoneale, intracerebrospinale, sottocutanea, intra-articolare, intrasinoviale, intratecale, orale, topica o per inalazione. La somministrazione locale è particolarmente desiderata se importanti effetti collaterali o di tossicità sono correlati all'antagonista del VEGF. Una strategia ex vivo può anche essere utilizzata per applicazioni terapeutiche. Le strategie ex vivo comportano trasfezione o trasduzione di cellule ottenute dal soggetto con un polinucleotide che codifica un antagonista del VEGF. Le cellule transfettate o trasdotte vengono quindi riportate nel soggetto. Le cellule possono essere una qualsiasi di un'ampia serie di tipi tra cui, senza limitazioni, cellule ematopoietiche (ad esempio, cellule del midollo osseo, macrofagi, monociti, cellule dendritiche, cellule T o cellule B), fibroblasti, cellule epiteliali, cellule endoteliali, cheratinociti o cellule muscolari.

Ad esempio, se l'antagonista VEGF-specifico è un anticorpo, l'anticorpo viene somministrato mediante qualsiasi mezzo idoneo, incluso parenterale, sottocutaneo, intraperitoneale, intrapolmonare e intranasale e, se lo si desidera per il trattamento immunosoppressivo locale, la somministrazione intralesionale. Le infusioni per via parenterale includono la somministrazione intramuscolare, endovenosa, intraarteriosa, intraperitoneale o sottocutanea. In aggiunta, l'anticorpo viene convenientemente somministrato mediante infusione pulsata, in modo particolare in dosi decrescenti dell'anticorpo. Preferibilmente il dosaggio viene fornito mediante iniezioni, in modo massimamente preferito iniezioni endovenose o sottocutanee, in base a se la somministrazione è breve o cronica.

In un altro esempio, l'anticorpo anti-VEGF viene somministrato localmente, ad esempio mediante iniezioni dirette, quando il disturbo o la posizione del tumore lo consente, e le iniezioni possono essere ripetute periodicamente. L'anticorpo anti-VEGF può essere anche erogato per via sistemica nel soggetto o direttamente nelle cellule tumorali, ad esempio in un tumore o un letto tumorale dopo asportazione chirurgica del tumore, al fine di prevenire o ridurre la recidiva locale o metastasi, ad esempio di un tumore dormiente o micrometastasi.

#### Formulazioni farmaceutiche

Formulazioni terapeutiche degli anticorpi descritti nel presente documento, usati secondo l'invenzione, sono preparate per la conservazione miscelando un anticorpo avente il grado di purezza desiderato con veicoli, eccipienti o stabilizzanti facoltativi farmaceuticamente accettabili (Remington's Pharmaceutical Sciences 16<sup>a</sup> edizione, Osol, A. Ed. (1980)), sotto forma di formulazioni liofilizzate o soluzioni acquose. Veicoli, eccipienti o stabilizzanti accettabili non sono tossici per i riceventi ai dosaggi e concentrazioni usati, e includono tamponi come ad esempio fosfato, citrato e altri acidi organici; antiossidanti tra cui acido ascorbico e metionina; conservanti (come ad esempio cloruro di ottadecildimetilbenzilammonio; cloruro di esametonio; cloruro di benzalconio; cloruro di benzetonio; fenolo, alcol butilico o benzilico; alchil parabeni come ad esempio metil o propil parabene; catecolo; resorcinolo; cicloesano; 3-pentano; e m-cresolo); polipeptidi a basso peso molecolare (meno di circa 10 residui); proteine; come ad esempio albumina sierica, gelatina o immunoglobuline; polimeri idrofili come ad esempio polivinilpirrolidone; amminoacidi come ad esempio glicina, glutammina, asparagina, istidina, arginina o lisina; monosaccaridi, disaccaridi e altri carboidrati tra cui glucosio, mannosio o destrine; agenti chelanti come ad esempio EDTA; zuccheri come ad esempio saccarosio, mannitolo, trealosio o sorbitolo; controioni formanti sali come ad esempio sodio; complessi metallici (ad esempio, complessi Zn-proteina); e/o tensioattivi non ionici come ad esempio TWEEN<sup>TM</sup>, Pluronic<sup>TM</sup> o polietilenglicole (PEG). Le formulazioni liofilizzate di anticorpo anti-VEGF sono descritte in WO 97/04801, espressamente incorporato nel

presente documento per riferimento.

Facoltativamente, ma preferibilmente, la formulazione contiene un sale farmaceuticamente accettabile, tipicamente, ad esempio, cloruro di sodio, e preferibilmente approssimativamente a concentrazioni fisiologiche. Facoltativamente, le formulazioni dell'invenzione possono contenere un conservante farmaceuticamente accettabile. In alcune forme di realizzazione la concentrazione del conservante varia dallo 0,1 al 2,0%, tipicamente v/v. Conservanti idonei includono quelli noti nella tecnica farmaceutica. Alcool benzilico, fenolo, m-cresolo, metilparaben e propilparaben sono esempi di conservanti. Facoltativamente, le formulazioni dell'invenzione possono includere un tensioattivo farmaceuticamente accettabile a una concentrazione dallo 0,005 allo 0,02%.

Tipicamente, bevacizumab è fornito per usi terapeutici in fiale monouso senza conservanti da 100 mg e 400 mg per fornire 4 ml o 16 ml di bevacizumab (25 mg/ml). Il prodotto da 100 mg è formulato in 240 mg di  $\alpha$ ,  $\alpha$ -trealosio deidrato, 23,2 mg di sodio fosfato (monobasico, monoidrato), 4,8 mg di fosfato di sodio (dibasico, anidro), 1,6 mg di polisorbato 20 e acqua per iniezione, USP. Il prodotto da 400 mg è formulato in 960 mg di  $\alpha$ ,  $\alpha$ -trealosio deidrato, 92,8 mg di sodio fosfato (monobasico, monoidrato), 19,2 mg di fosfato di sodio (dibasico, anidro), 6,4 mg di polisorbato 20 e acqua per iniezione, USP. Si veda anche l'etichetta per bevacizumab.

La formulazione nel presente documento può anche contenere più di un composto attivo come necessario per la particolare indicazione che viene trattata, preferibilmente quelli con attività complementari che non si influenzano negativamente a vicenda. Ad esempio, può essere desiderabile fornire inoltre anticorpi che si legano a VEGF (ad esempio un anticorpo che lega un epitopo diverso su VEGF), VEGFR in un'unica formulazione. In alternativa, o in aggiunta, la composizione può comprendere un agente citotossico, una citochina, un agente inibitore della crescita e/o un antagonista del VEGFR. Convenientemente, tali molecole sono presenti in combinazione in quantità che sono efficaci per lo scopo previsto.

I principi attivi possono essere intrappolati anche in microcapsule preparate, ad esempio, mediante tecniche di coacervazione o polimerizzazione interfacciale, ad esempio, microcapsule di gelatina o idrossimetilcellulosa e microcapsule di poli-(metilmetacilato), rispettivamente, in sistemi di somministrazione farmacologica colloidale (ad esempio, liposomi, microsfele di albumina, microemulsioni, nano-particelle e nanocapsule) o in macroemulsioni. Tali tecniche sono descritte in Remington's Pharmaceutical Sciences 16a edizione, Osol, A. ed. (1980).

Possono essere preparate preparazioni a rilascio prolungato. Esempi idonei di preparazioni a rilascio prolungato includono matrici semipermeabili di polimeri idrofobi solidi contenenti l'anticorpo, le quali matrici sono sotto forma di articoli sagomati, ad esempio, film o

microcapsula. Esempi di matrici a rilascio prolungato includono poliesteri, idrogel (ad esempio, poli-(2-idrossietilmetacrilato), o poli(vinilalcol)), polilattidi (brevetto statunitense n. 3,773,919), copolimeri di acido L-glutammico e  $\gamma$ -etil-L-glutammato, etilen-vinilacetato non degradabile, copolimeri di acido lattico-acido glicolico degradabili come LUPRON DEPOT™ (microsfere iniettabili composte da copolimero di acido lattico-acido glicolico e acetato di leuprolide), e acido poli-D-(-)-3-idrossibutirrico. Mentre i polimeri come etilen-vinilacetato e acido lattico-acido glicolico consentono il rilascio di molecole per oltre 100 giorni, alcuni idrogel rilasciano proteine per periodi di tempo più brevi. Quando gli anticorpi incapsulati rimangono nel corpo per un lungo periodo di tempo, essi possono denaturarsi o aggregarsi come risultato dell'esposizione all'umidità a 37°. C., dando come risultato una perdita di attività biologica e possibili variazioni di immunogenicità. Strategie razionali possono essere ideate per la stabilizzazione in funzione del meccanismo coinvolto. Ad esempio, se si scopre che il meccanismo di aggregazione è la formazione di legame S-S intermolecolare attraverso l'intercambio tio-disolfuro, la stabilizzazione può essere ottenuta mediante la modifica dei residui solfidrilici, la liofilizzazione da soluzioni acide, il controllo del contenuto di umidità, l'utilizzo di opportuni additivi e lo sviluppo di composizioni specifiche di matrice polimerica.

Le formulazioni da usare per la somministrazione in vivo possono essere sterili. Ciò viene eseguito mediante filtrazione tramite membrane di filtrazione sterili.

#### Efficacia del trattamento

Il vantaggio principale di uno qualsiasi dei procedimenti, usi e composizioni forniti nel presente documento è la capacità di produrre marcati effetti anti-cancro in un soggetto umano senza causare tossicità significative o effetti avversi, in modo tale che il soggetto abbia beneficiato del trattamento in generale. In una forma di realizzazione di uno qualsiasi dei procedimenti, usi o composizioni, il profilo di sicurezza è paragonabile ai precedenti studi di fase III di bevacizumab. L'efficacia del trattamento dell'invenzione può essere misurata mediante vari endpoint comunemente usati nella valutazione dei trattamenti di cancro, tra cui, tuttavia senza limitazioni, regressione del tumore, peso del tumore o riduzione delle dimensioni, tempo alla progressione, durata della sopravvivenza, sopravvivenza libera da progressione, tasso di risposta globale, durata della risposta e qualità della vita.

#### Kit

In un'altra forma di realizzazione della descrizione, viene fornito un articolo di preparazione contenente materiali utili per il trattamento dei disturbi descritti sopra. L'articolo di preparazione comprende un contenitore, un'etichetta e un foglietto illustrativo. Contenitori idonei includono, ad esempio, fiacconi, fiale, siringhe, ecc. I contenitori possono essere costituiti da una varietà di materiali come

vetro o plastica. Il contenitore contiene una composizione che è efficace per il trattamento della patologia e può avere una porta di accesso sterile (ad esempio il contenitore può essere una sacca o una fiala di soluzione endovenosa avente un tappo perforabile mediante un ago per iniezione ipodermico). Almeno un principio attivo nella composizione è un anticorpo anti-VEGF. L'etichetta sul contenitore, o ad esso associata, indica che la composizione è usata per trattare la condizione di elezione. L'articolo di preparazione può comprendere inoltre un secondo contenitore comprendente un tampone farmaceuticamente accettabile, come soluzione salina tamponata con fosfato, soluzione di Ringer e soluzione di destrosio. Può inoltre includere altri materiali desiderabili da un punto di vista commerciale e dell'utilizzatore, tra cui altri tamponi, diluenti, filtri, aghi e siringhe. Inoltre, l'articolo di preparazione comprende un foglietto illustrativo con istruzioni per l'uso, tra cui ad esempio istruire l'utilizzatore della composizione a somministrare la composizione di anticorpo anti-VEGF e un agente chemioterapico al soggetto, ad esempio paclitaxel, topotecan o PLD o loro combinazioni. Il foglietto illustrativo può facoltativamente contenere alcuni o tutti i risultati trovati nell'esempio 1.

L'anticorpo anti-VEGF può essere confezionato da solo o in combinazione con altri composti terapeutici anti-cancro come kit. Il kit può includere componenti facoltativi che contribuiscono alla somministrazione della dose unitaria ai soggetti, come fiale per la ricostituzione di forme in polvere, siringhe per iniezione, sistemi di somministrazione endovenosa personalizzati, inalatori, ecc. In aggiunta, il kit di dose unitaria può contenere istruzioni per la preparazione e la somministrazione delle composizioni. In alcune forme di realizzazione, l'istruzione comprende istruzioni per l'uso, tra cui ad esempio istruire l'utilizzatore della composizione a somministrare la composizione di anticorpo anti-VEGF e un agente chemioterapico al soggetto, ad esempio paclitaxel, topotecan o PLD o loro combinazioni. Le istruzioni possono facoltativamente contenere alcuni o tutti i risultati trovati nell'esempio 1. Il kit può essere prodotto come dose unitaria monouso per un soggetto, usi multipli per un particolare soggetto (a una dose costante o in cui i singoli composti possono variare di potenza con il progredire della terapia); oppure il kit può contenere più dosi idonee per la somministrazione a più soggetti ("confezionamento alla rinfusa"). I componenti del kit possono essere assemblati in scatole di cartone, blister, flaconi, tubi e simili.

#### **ESEMPIO**

Qui si seguito sono riportati esempi di procedimenti e composizioni dell'invenzione. È inteso che, data la descrizione generale fornita sopra, possono essere realizzate diverse altre forme di realizzazione.

**Esempio 1: studio clinico multicentrico, in aperto, randomizzato a due bracci di fase III di bevacizumab più chemioterapia rispetto a chemioterapia da sola in pazienti con cancro ovarico epiteliale resistente al platino, delle tube di Falloppio**

### o peritoneale primario (AURELIA)

Lo studio AURELIA ha valutato l'efficacia e la sicurezza di bevacizumab in combinazione con chemioterapia per cancro ovarico resistente al platino. Questo studio è stato concepito come una valutazione prospettica, in aperto, randomizzata, a due bracci di fase III di bevacizumab più chemioterapia rispetto a chemioterapia da sola. Per essere eleggibili, le pazienti devono essere affette da cancro ovarico che è progredito entro 6 mesi dalla precedente terapia a base di platino. Paclitaxel, topotecan o doxorubicina liposomiale pegilata (PLD) sono stati selezionati come partner di combinazione chemioterapici poiché sono comunemente usati per il trattamento della malattia resistente al platino. Aggiungendo bevacizumab alla chemioterapia, lo studio AURELIA mirava a migliorare la PFS per questo gruppo di pazienti che hanno opzioni terapeutiche limitate e che affrontano una prognosi particolarmente sfavorevole. L'obiettivo principale era confrontare la sopravvivenza libera da progressione (PFS) delle pazienti randomizzate con chemioterapia selezionata da sola o con chemioterapia selezionata più bevacizumab.

Progetto di studio: questo studio consisteva di due (2) bracci di trattamento: chemioterapia da sola (braccio 1) e chemioterapia più bevacizumab (braccio 2). Le pazienti sono state assegnate in modo casuale (1:1) a uno dei due bracci, si veda la figura 1.

Braccio 1 (chemioterapia da sola): Le pazienti eleggibili hanno ricevuto una delle seguenti chemioterapie su un ciclo di 4 settimane a discrezione dello sperimentatore:

- a. Paclitaxel 80 mg/m<sup>2</sup> come infusione endovenosa di 1 ora nei giorni 1, 8, 15 e 22 ogni 4 settimane.
- b. Topotecan 4 mg/m<sup>2</sup> come infusione endovenosa di 30 minuti nei giorni 1, 8 e 15 ogni 4 settimane.

In alternativa, una dose di 1,25 mg/m<sup>2</sup> può essere somministrata per 30 minuti nei giorni 1-5 ogni tre settimane.

- c. Doxorubicina liposomiale pegilata 40 mg/m<sup>2</sup> come infusione endovenosa di 1 mg/min solo il giorno 1, ogni 4 settimane. Dopo il ciclo 1, il farmaco può essere erogato come infusione di 1 ora.

A seconda della chemioterapia scelta, la pre-medicazione è stata implementata secondo le pratiche locali. In seguito alla progressione della malattia, le pazienti del braccio 1 hanno avuto la possibilità di ricevere: (a) bevacizumab da solo (15 mg/kg endovena ogni tre settimane); o (b) standard di cura.

Braccio 2 (chemioterapia più bevacizumab): La chemioterapia è stata selezionata tra un farmaco di quelli descritti nel braccio 1 a discrezione dello sperimentatore. La chemioterapia scelta è stata inizialmente combinata con bevacizumab 10 mg/kg endovena ogni due settimane (o 15 mg/kg ogni tre settimane se usata in combinazione con topotecan 1,25 mg/m<sup>2</sup> nei giorni 1-5 di un programma

trisettimanale). L'infusione iniziale di bevacizumab era per 90 minuti, con successive infusioni per 60 minuti e poi 30 minuti, come tollerato. Bevacizumab è stato somministrato prima della chemioterapia nel primo ciclo e poi somministrato prima o dopo la chemioterapia nei cicli successivi. Nel caso in cui la chemioterapia fosse completata prima della diagnosi di malattia progressiva, le pazienti hanno continuato a ricevere bevacizumab come: (a) 10 mg/kg endovena ogni due settimane; o (b) 15 mg/kg ogni tre settimane se topotecan veniva selezionato e somministrato a una dose di 1,25 mg/m<sup>2</sup> nei giorni 1-5 di un programma trisettimanale. Dopo la progressione della malattia, le pazienti hanno ricevuto un trattamento di standard di cura.

Le analisi di PFS e ORR si sono basate su valutazioni del tumore (basate su criteri RECIST) usando l'imaging in sezione trasversale (preferibilmente mediante TC o RM in caso di allergia al contrasto) della pelvi e dell'addome e (mediante radiografia o preferibilmente mediante TC) del petto. La stessa tecnica di valutazione è stata utilizzata in tutto lo studio per valutare una lesione particolare.

Le valutazioni del tumore sono state eseguite al basale quindi ogni 8 settimane (ogni 9 settimane per le pazienti trattate con topotecan 1,25 mg/m<sup>2</sup> nei giorni 1-5 di un ciclo trisettimanale). Le risposte sono state confermate da una seconda TC eseguita non prima di 4 settimane dopo il primo soddisfacimento dei criteri di risposta.

L'aumento progressivo seriale di CA-125 sierica è stato utilizzato per determinare la risposta di CA-125 e l'intervallo libero da progressione biologico (PFIbio). La sopravvivenza globale è stata misurata dalla data della randomizzazione alla data del decesso per qualsiasi causa.

#### Popolazione di studio - Criteri di inclusione

Pazienti di età  $\geq 18$  anni e malattia istologicamente confermata e documentata. Sono eleggibili i seguenti tipi istologici: adenocarcinoma NOS; adenocarcinoma a cellule chiare; adenocarcinoma endometrioidico; tumore maligno di Brenner; carcinoma epiteliale misto; adenocarcinoma mucinoso; adenocarcinoma sieroso; carcinoma a cellule di transizione; carcinoma indifferenziato.

Le pazienti devono avere una malattia resistente al platino, (definita come progressione entro <6 mesi dal completamento di un minimo di 4 cicli di terapia con platino. La data deve essere calcolata dall'ultima dose somministrata di terapia con platino).

Le pazienti devono avere una malattia misurabile secondo RECIST o valutabile secondo i criteri per CA-125 del Gynecologic Cancer InterGroup (GCIG) e richiedere un trattamento chemioterapico, oltre a un ECOG PS 0-2 e un'aspettativa di vita di  $\geq 12$  settimane.

#### Popolazione di studio - Criteri di esclusione

Correlati al cancro: Pazienti la cui malattia era refrattaria al precedente trattamento con platino. Malattia refrattaria è definita come quelle pazienti la cui malattia è progredita durante il precedente trattamento con platino; tumori non-epiteliali, tra cui tumori mulleriani misti maligni; tumori ovarici con basso potenziale maligno (ossia tumori borderline); storia di altre neoplasie maligne clinicamente attive entro 5 anni dall'arruolamento, ad eccezione di tumori con rischio trascurabile di metastasi o morte, come carcinoma basocellulare adeguatamente controllato o carcinoma a cellule squamose della pelle o carcinoma in situ della cervice o della mammella.

Trattamento precedente, attuale o programmato: Trattamento precedente con regime anticancro >2; qualsiasi radioterapia precedente a pelvi o addome; intervento chirurgico (inclusa biopsia aperta) entro 4 settimane prima dell'inizio dello studio o previsione della necessità di un intervento chirurgico maggiore durante il trattamento di studio; procedure chirurgiche minori, entro 24 ore prima del primo trattamento di studio; precedente esposizione a anticorpo di CA-125 murino (applicabile solo a quelle pazienti con malattia non misurabile mediante RECIST); trattamento cronico giornaliero attuale o recente (entro 10 giorni prima della prima dose del farmaco in studio) con aspirina (>325 mg/giorno); trattamento attuale o recente con un altro farmaco sperimentale entro 30 giorni dal primo dosaggio del trattamento in studio o dalla precedente partecipazione a questo studio; trattamento cronico giornaliero con corticosteroidi (dose >10 mg/giorno di equivalente di metilprednisolone), esclusi gli steroidi per via inalatoria.

Laboratorio:

Funzionalità inadeguata del midollo osseo: ad esempio, ANC: <1,5 x 10<sup>9</sup>/l, o conta piastrinica <100 x 10<sup>9</sup>/l o emoglobina <9 g/dl. Le pazienti possono essere trasfuse per mantenere valori di emoglobina >9 g/dl. L'esclusione include anche parametri di coagulazione inadeguati: aPTT > 1,5 x ULN (le pazienti trattate con eparina devono avere un aPTT compreso tra 1,5 e 2,5 x ULN) o INR > 1,5. (Nelle pazienti che ricevono anticoagulanti (come warfarin), l'INR deve essere compreso tra 2,0 e 3,0 in due misurazioni consecutive a distanza di 1-4 giorni). Le esclusioni includono insufficienza epatica, definita come: bilirubina sierica (totale) >1,5 x ULN per l'istituzione; fosfatasi alcalina, AST/SGOT o ALT/SGPT >2,5 x ULN (o 5 x ULN in presenza di metastasi epatiche). Le esclusioni includono funzionalità renale inadeguata, definita come creatinina sierica >2,0 mg/dl o >177 µmol/l o clearance della creatinina calcolata <40 ml/min (secondo la formula di Cockcroft e Gault) per le pazienti destinate a essere trattate con topotecan; o striscia dell'urina per la proteinuria >2+. Le pazienti con proteinuria ≥2+ sull'analisi della striscia di base devono essere sottoposte a una raccolta delle urine in 24 ore e devono dimostrare ≤1 g di proteina nelle urine delle 24 ore. In alternativa, il test di proteinuria può essere eseguito secondo gli standard locali.

Condizioni o procedure precedenti o concomitanti:

Storia o evidenza dopo esame fisico/neurologico di malattia del SNC non correlata al cancro, a meno che non adeguatamente trattata con terapia medica standard (ad esempio epilessia incontrollata); metastasi sintomatica del SNC; neuropatia periferica preesistente  $\geq$  CTC grado 2 per quelle pazienti programmate per ricevere paclitaxel; donne in gravidanza o in allattamento. Test di gravidanza sierico da valutare entro 7 giorni prima dell'inizio del trattamento di studio, o entro 14 giorni (con un test di gravidanza urinario di conferma entro 7 giorni prima dell'inizio del trattamento di studio); donne in età fertile (definite come  $<2$  anni dopo l'ultima mestruazione e non chirurgicamente sterili) che non usano contraccettivi ormonali o non ormonali altamente efficaci (ad esempio dispositivo contraccettivo intrauterino) durante lo studio e per 6 mesi dopo l'ultima dose del medicinale di studio; storia o evidenza di disturbi trombotici o emorragici; tra cui l'incidente cerebrovascolare (CVA)/ictus o attacco ischemico transitorio (TIA) o emorragia subaracnoidea entro  $\leq 6$  mesi prima del primo trattamento di studio; ipertensione non controllata (sistolica sostenuta  $>150$  mmHg e/o diastolica  $>100$  mmHg nonostante terapia antipertensiva) o malattia cardiovascolare clinicamente significativa (ossia attiva), tra cui: infarto del miocardio o angina instabile entro  $\leq 6$  mesi prima del primo trattamento di studio o insufficienza cardiaca congestizia (CHF) di grado II o maggiore della New York Heart Association (NYHA) o grave aritmia cardiaca che richiede medicinali (ad eccezione di fibrillazione atriale o tachicardia parossistica sopraventricolare) o malattia vascolare periferica  $>$ grado 3 (ossia sintomatica e interferente con le attività della vita quotidiana che richiede riparazione o revisione). Le esclusioni includono anche la frazione di eiezione del ventricolo sinistro definita da MUGA/ECHO al di sotto del limite inferiore istituzionale della norma (applicabile solo per le pazienti destinate a essere trattate con doxorubicina liposomiale pegilata); storia di ostruzione intestinale, tra cui malattia sub-occlusiva, correlata alla malattia di base e storia di fistola addominale, perforazione gastrointestinale o ascesso intra-addominale. Evidenza di coinvolgimento retto-sigmoideo mediante esame pelvico o coinvolgimento intestinale alla TC o sintomi clinici di ostruzione intestinale; ferita che non si rimargina, ulcera o frattura ossea; infezione attiva grave che richiede antibiotici endovena e/o ospedalizzazione all'ingresso nello studio; ipersensibilità nota a uno qualsiasi dei farmaci in studio o degli eccipienti; evidenza di qualsiasi altra condizione medica (come malattia psichiatrica, ulcera peptica, ecc.), esame obiettivo o risultati di laboratorio che possono interferire con il trattamento pianificato, influenzano l'aderenza della paziente o espongono la paziente ad alto rischio di complicazioni correlate al trattamento.

#### RISULTATI:

Le pazienti eleggibili presentavano cancro ovarico (misurabile con RECIST 1.0 o valutabile) che era progredito  $\leq 6$  mesi dopo  $\geq 4$  cicli di terapia a base di platino. Le pazienti con cancro ovarico refrattario, storia di ostruzione intestinale o  $>2$  regimi anticancro precedenti

non erano eleggibili. Dopo la scelta della chemioterapia (doxorubicina liposomiale pegilata [PLD], topotecan [TOP] o paclitaxel [PAC] settimanale), le pazienti sono state randomizzate a chemioterapia da sola o con bevacizumab (10 mg/kg ogni due settimane o 15 mg/kg ogni tre settimane a seconda della chemioterapia) fino a progressione, tossicità inaccettabile o ritiro del consenso. Le pazienti nel braccio della chemioterapia da sola possono passare alla monoterapia con bevacizumab alla progressione. L'endpoint primario era PFS mediante RECIST. Gli endpoint secondari includevano tasso di risposta obiettiva (ORR), sopravvivenza complessiva, sicurezza e qualità della vita. Il progetto ha fornito l'80% di potenza per rilevare un rapporto di rischio (HR) di PFS di 0,7 con il test dei ranghi logaritmici bilaterale e  $\alpha = 0,05$  dopo 247 eventi, supponendo una PFS mediana di 4,0 mesi con chemioterapia e 5,7 mesi con chemioterapia + bevacizumab. La dimensione del campione è stata aumentata come suggerito dall'IDMC; l'analisi primaria è stata pianificata dopo eventi in 291 di 361 pazienti.

Tra ottobre 2009 e aprile 2011, sono state randomizzate 361 pazienti a ricevere la chemioterapia selezionata (PLD: 126; PAC: 115; TOP: 120) da sola o con bevacizumab. Il follow-up mediano è di 13,5 mesi.

**TABELLA 1: RISULTATI DI FASE III DI AURELIA**

	Chemioterapia (CT)	bevacizumab + CT
PFS mediante RECIST	(N=182)	(N=179)
Eventi, n (%)	166 (91)	135 (75)
HR (95% CI)	0,48 (0,38-0,60) Ranghi logaritmici p <0,001	
Mediana, mesi (95% CI)	3,4 (2,2-3,7)	6,7 (5,7-7,9)
ORR, % (95% CI)	12,6 (8,0-18,4)	30,9 (24,1-38,3)
	p=0,001	
	(N=181)	(N=179)
Grado selezionato $\geq 3$ AEs, %		
Iperensione (grado $\geq 2$ )	7	20
Proteinuria (Grado $\geq 2$ )	1	11
Emorragia	1	1
Evento trombo-embolico	4	5
arterioso	0	2
Venoso	4	3
Perforazione GI (grado $\geq 2$ )	0	2
Fistola/ascesso (Grado $\geq 2$ )	0	2
RPLS	0	1
Neutropenia febbrile	1	1
CHF	1	1

La figura 2 mostra la stratificazione delle pazienti partecipanti allo studio suddividendo le pazienti in sottogruppi mediante diversi fattori di rischio, ad esempio età in anni, maggiore o uguale a 65 anni di età o età inferiore a 65 anni; per pazienti il cui intervallo libero da

platino (PFI) era inferiore a 3 mesi (queste sono le pazienti che hanno in genere un fattore prognostico peggiore rispetto ad altre pazienti) o quelle il cui PFI era compreso tra 3 e 6 mesi; pazienti con malattia misurabile o tumori misurati in centimetri come indicato; pazienti con ascite, ossia aventi un liquido nella cavità addominale, hanno tipicamente una malattia più sintomatica e un risultato peggiore rispetto a quelle che non la presentano; e pazienti che hanno ricevuto uno dei tre regimi chemioterapici, paclitaxel, PLD o topotecan, come scelto dal medico curante della paziente. Indipendentemente da quale sottogruppo di pazienti sia stato trattato, la combinazione di bevacizumab e chemioterapia dimostra efficacia e un aumento del beneficio delle pazienti come in tutti i casi, i rapporti di rischio in ciascun sottogruppo sono allineati intorno a 0,5 come mostrato sull'asse x nella parte inferiore della figura.

La figura 3 confronta i due procedimenti più comuni per misurare la risposta alla terapia, utilizzando un esame del sangue, CA-125 o mediante radiografia (RECIST) o combinando entrambi (RECIST + CA 125). Utilizzando tutti i procedimenti, i dati mostrano che l'aggiunta di bevacizumab ha aumentato il tasso di risposta globale (ORR) rispetto a quelle pazienti trattate con chemioterapia da sola, indicando che con la terapia di combinazione, i tumori ovarici delle pazienti sembravano ridursi più che con la chemioterapia da sola.

L'analisi per coorte di chemioterapia è riassunta nella seguente tabella 2. Nel cancro ovarico resistente al platino, il miglioramento di PFS e ORR ottenuto aggiungendo bevacizumab alla chemioterapia ad agente singolo è stato osservato in tutte le coorti di chemioterapia.

**TABELLA 2: ESPOSIZIONE ED EFFICACIA DI CHEMIOTERAPIA DI FASE III DI AURELIA**

	PAC (n=115)		PLD (n=126)		TOP (n=120)	
	CT (n=55)	BEV + CT (n=60)	CT (n=64)	BEV + CT (n=62)	CT (n=63)	BEV + CT (n=57)
Età mediana, y	60	60	62	63,5	61	60
FIGO stadio III/IV,%	87	90	81	90	89	96
Intervallo libero da PT <3 mesi,%	27	27	20	27	25	26
Numero mediano di cicli di CT (intervallo)	4 (115)	6 (113)	3 (117)	4 (111)	3 (111)	6 (114)
<b>PFS</b>						
Eventi,%	89	62	95	87	89	77
Mediana, mesi	3,9	10,4	3,5	5,4	2,1	5,8
HR (95% IC) <sup>a</sup>	0,46 (0,30-0,71)		0,57 (0,39-0,83)		0,32 (0,21-0,49)	
<b>ORR, %</b>	28,8	51,7	7,9	18,3	3,3	22,8
Differenza (95% CI)	22,9 (3,9-41,8)		10,4 (da -2,4 a 23,2)		19,5 (6,7-32,3)	

<sup>a</sup>Non stratificato

ORR = tasso di risposta globale (RECIST e/o CA-125)

Nel cancro ovarico resistente al platino, il miglioramento di PFS e ORR ottenuto aggiungendo bevacizumab alla chemioterapia ad agente singolo è stato osservato in tutte le coorti di chemioterapia. L'esposizione aumentata alla chemioterapia associata a PFS prolungata rappresenta un aumento della tossicità cumulativa della chemioterapia.

AURELIA è il primo studio randomizzato di bevacizumab nel cancro ovarico resistente al platino. È stato dimostrato che bevacizumab e chemioterapia forniscono un miglioramento statisticamente e clinicamente significativo dell'ORR e della PFS rispetto alla chemioterapia da sola. Uno screening attento della paziente riduce al minimo il rischio di eventi avversi di bevacizumab. Questo è il primo studio di fase III nel cancro ovarico resistente al platino a mostrare benefici con una terapia mirata e un risultato migliorato con una combinazione rispetto alla monoterapia.

## ELENCO DELLE SEQUENZE

<110> Bollag, David

Bernasconi, Corrado

<120> TERAPIA COMBINATA PER IL TRATTAMENTO DEL CANCRO OVARICO

<130> P4879R1

<150> US 61/610.128

<151> 13/03/2012

<150> US 61/653.598

<151> 31/05/2012

<150> US 61/672.987

<151> 18/07/2012

<160> 2

<210> 1

<211> 108

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> sequenza amminoacidica della catena leggera variabile dell'anticorpo umanizzato

<400> 1

**Ile Lys Arg**

<210> 2

<211> 123

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> sequenza amminoacidica della catena pesante variabile dell'anticorpo umanizzato

<400> 2

--- --- ---

Val Ser Ser

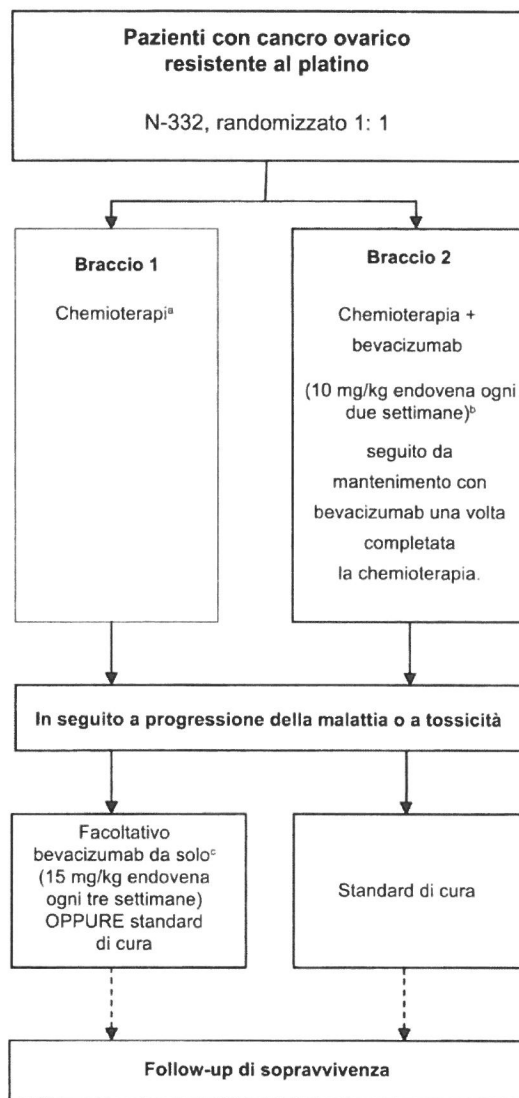
## RIVENDICAZIONI

1. Bevacizumab per l'uso in un procedimento per trattare una paziente con diagnosi di cancro ovarico epiteliale resistente al platino (EOC), carcinoma delle tube di Falloppio resistente al platino (FTC) o carcinoma peritoneale primario resistente al platino (PPC), in cui il procedimento comprende la somministrazione a detta paziente di una quantità efficace di bevacizumab e paclitaxel, in cui detta paziente ha ricevuto due o meno precedenti regimi anticancro, in cui detto trattamento prolunga il tempo mediano di sopravvivenza libera da progressione di detta paziente rispetto a una paziente con un cancro ovarico epiteliale resistente al platino (EOC), un carcinoma delle tube di Falloppio resistente al platino (FTC) o un carcinoma peritoneale primario resistente al platino (PPC) che riceve paclitaxel da solo.
2. Bevacizumab per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui detta paziente non è refrattaria al precedente trattamento con platino.
3. Bevacizumab per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui detta paziente ha malattia misurabile secondo RECIST 1.0 o malattia valutabile tramite CA-125 secondo i criteri GCIG.
4. Bevacizumab per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui detta paziente ha un performance status ECOG di 0-2 e un'aspettativa di vita di almeno 12 settimane.
5. Bevacizumab per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui detta quantità efficace di detto paclitaxel viene somministrata a 80 mg/m<sup>2</sup> come infusione endovenosa di 1 ora nei giorni 1, 8, 15 e 22 ogni 4 settimane.
6. Bevacizumab per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui detta quantità efficace di bevacizumab è di 10 mg/kg per via endovenosa ogni due settimane o di 15 mg/kg per via endovenosa ogni tre settimane.
7. Bevacizumab per l'uso secondo la rivendicazione 6, in cui detta quantità efficace di bevacizumab viene somministrata inizialmente per via endovenosa per 90 minuti, con infusioni successive per 60 minuti e poi 30 minuti.
8. Bevacizumab per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui detta paziente ha un intervallo libero da platino (PFI) inferiore a 3 mesi.
9. Bevacizumab per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui detta paziente ha ascite addominale.
10. Bevacizumab per l'uso secondo la rivendicazione 1, in cui detto trattamento migliora inoltre il tasso di risposta obiettiva (ORR) di detta paziente rispetto a una paziente con cancro ovarico resistente al platino che riceve paclitaxel da solo.

Si attesta la perfetta conformità della traduzione che precede

  
Marco Giovanni Mari  
USBM / CPI-090  
43

Figura 1

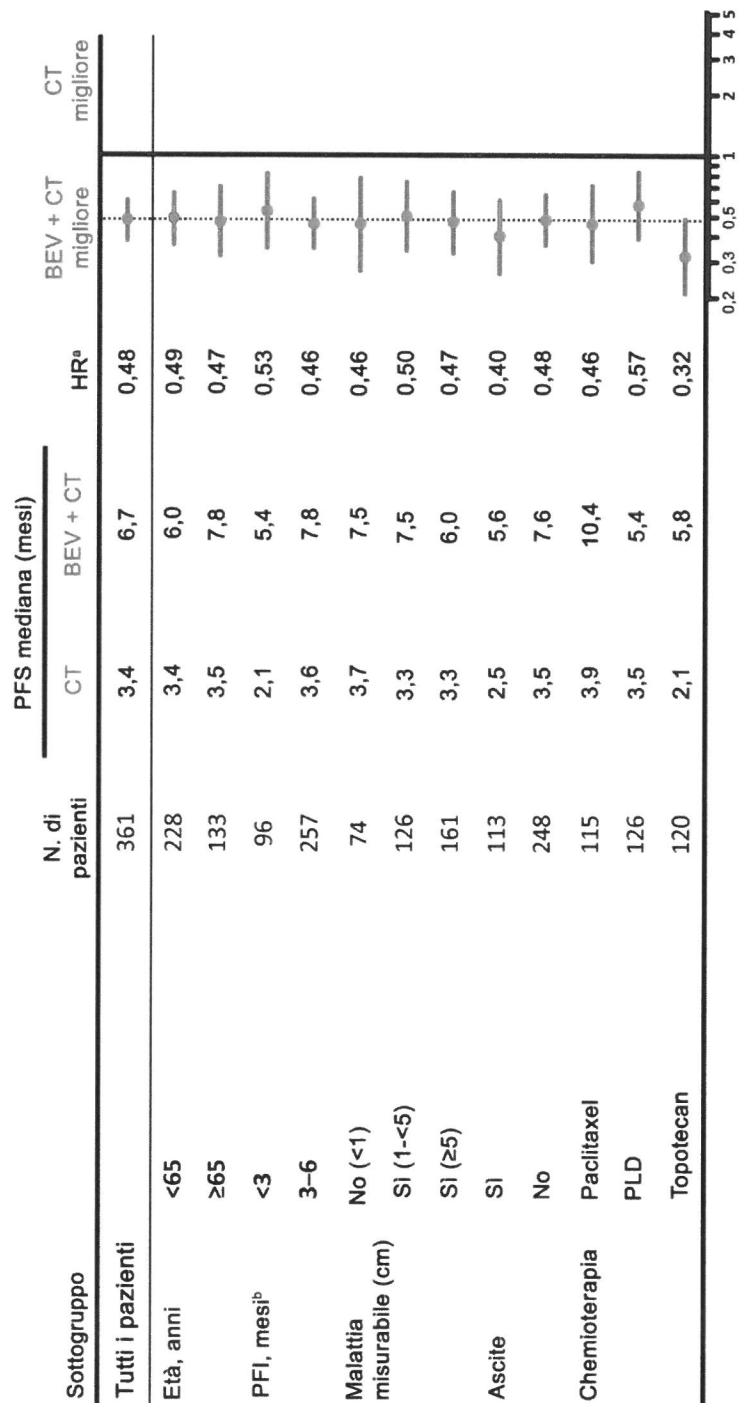


a. Scelta di paclitaxel, topotecan o PLD (Caelyx)

b. Saranno invece utilizzati 15 mg/kg ogni tre settimane se viene selezionato e somministrato topotecan a una dose di 1,25 mg/m<sup>2</sup> su un programma 1-5/ogni tre settimane

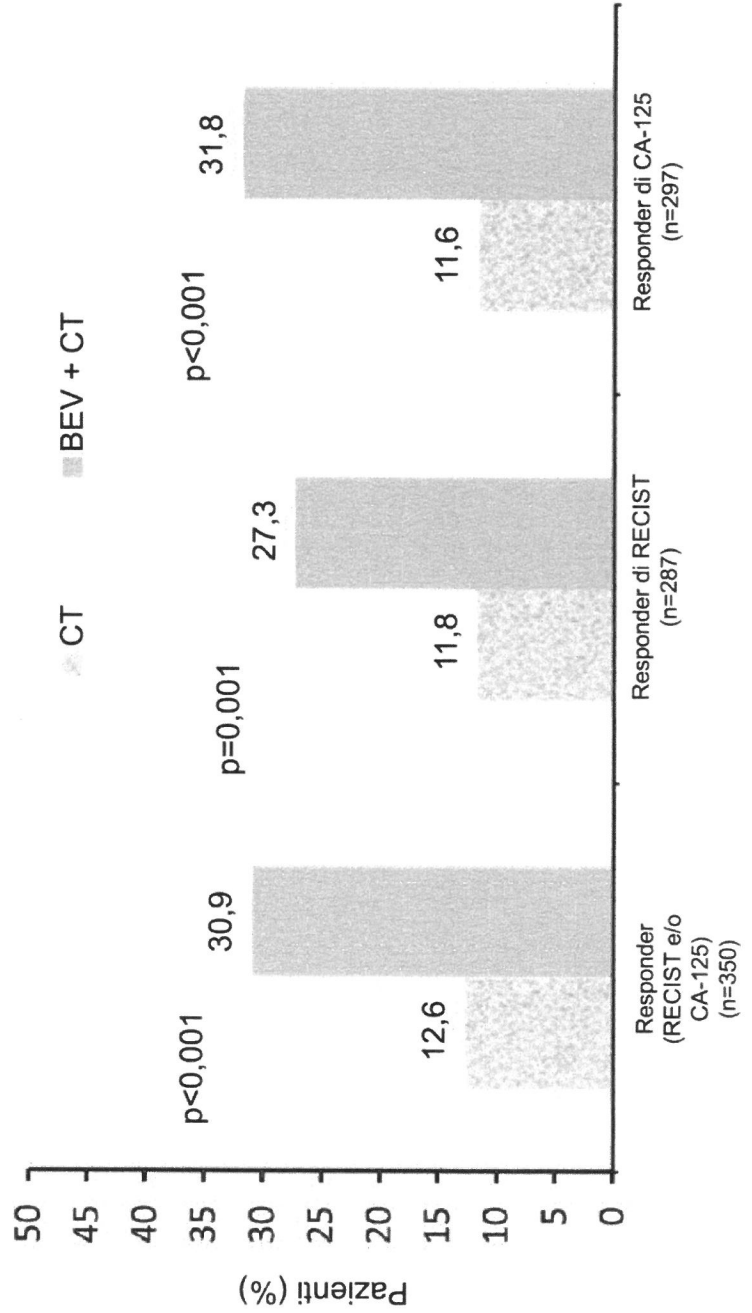
c. Si faccia riferimento alla sezione 6.1.3 Trattamento solo alla progressione della malattia

Figura 2



<sup>a</sup>Non regolato. <sup>b</sup>Informazioni mancanti n=8

Figura 3



\*\*\*\*\*

Si attesta la perfetta conformità della traduzione che precede

  
Marco Giovanni Mari  
USBM - CPI-090