

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201692480 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2017.04.28

(22) Дата подачи заявки
2015.05.26

(51) Int. Cl. *A61K 31/4184* (2006.01)
A61P 35/04 (2006.01)
A61K 38/06 (2006.01)
A61K 31/407 (2006.01)
A61K 31/427 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61K 31/573 (2006.01)
A61K 31/58 (2006.01)
A61K 31/69 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ

(31) 1409471.8

(32) 2014.05.28

(33) GB

(86) PCT/EP2015/061571

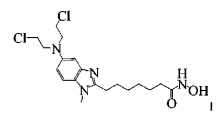
(87) WO 2015/181156 2015.12.03

(71) Заявитель:
ЭРО-СЕЛТИК С.А. (LU)

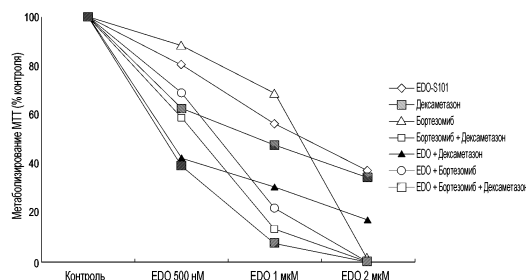
(72) Изобретатель:
Мерлинг Томас Йорг (CH), Осно
Энрике Мария (ES)

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

(57) Настоящее изобретение относится к комбинации, содержащей ингибитор протеасом и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль



к фармацевтической композиции и набору, содержащим указанную комбинацию, к комбинации, композиции или набору для применения в лечении злокачественного новообразования и к способу лечения злокачественного новообразования у нуждающегося в этом пациента, включающему введение указанному пациенту эффективного количества указанной комбинации, композиции или набора.



A1

201692480

201692480

A1

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ**Область техники**

Настоящее изобретение относится к комбинациям и композициям, применимым в лечении злокачественного новообразования, например, в лечении рака молочной железы или гемобластозов, таких как множественная миелома, лимфома или лейкоз.

Уровень техники

Злокачественные новообразования являются одними из наиболее опасных для жизни заболеваний. Злокачественные новообразования являются состояниями, при которых клетки в части тела испытывают бесконтрольный рост. Согласно последним данным American Cancer Society, в 2014 году в США появилось 1,67 миллионов новых случаев злокачественных новообразований. Злокачественные новообразования являются второй из основных причин гибели в США (после заболеваний сердца) и в 2014 году они унесли более 585000 жизней. Фактически, по имеющимся оценкам у 50% всех мужчин и 33% всех женщин, живущих в США, будет развиваться какой-либо тип злокачественного новообразования в течение их жизни. Таким образом, в США злокачественные новообразования представляют собой основное бремя для здравоохранения и значительные затраты. Эти цифры находят отражение в большинстве стран по всему миру, хотя типы злокачественных новообразований и относительные доли популяции, у которых развиваются злокачественные новообразования, будут зависеть от множества различных факторов, включая генетику и питание.

В течение десятилетий хирургическое лечение, химиотерапия и облучение являлись общепринятыми способами лечения различных злокачественных новообразований. Пациенты, как правило, получают комбинацию этих способов лечения в зависимости от типа и степени их заболевания. Но химиотерапия является наиболее важным вариантом для пациентов со злокачественными новообразованиями, когда хирургическое лечение (т.е. удаление пораженной ткани) невозможно. В то время как хирургическое

вмешательство иногда является эффективным в удалении опухолей, локализованных в конкретных участках, например, в молочной железе, толстом кишечнике и коже, его нельзя использовать ни в лечении опухолей, локализованных в других областях, таких как скелет, ни в лечении диссеминированных гемобластозов, включая злокачественные новообразования крови и кроветворных тканей (таких как костный мозг). Они включают множественную миелому, лимфому и лейкоз. Лучевая терапия включает подвергание живой ткани воздействию ионизирующего излучения, что вызывает гибель или повреждение подвергнутых воздействию клеток. Побочные эффекты лучевой терапии могут являться острыми и временными, в то время как другие могут являться необратимыми. Химиотерапия включает нарушение репликации или метаболизма клетки. Чаще всего ее используют в лечении рака молочной железы, легких и яичка. Одной из основных причин неудачи этого лечения злокачественного новообразования является развитие лекарственной устойчивости у злокачественных клеток, серьезной проблемы, которая может приводить к рецидивированию заболевания или даже гибели. Таким образом, необходимо более эффективное лечение злокачественных новообразований.

Множественная миелома является значительной и все растущей проблемой. Она является злокачественным новообразованием, происходящим из плазматических клеток. Нормальные плазматические клетки продуцируют иммуноглобулины для борьбы с инфекцией. При миеломе плазматические клетки становятся аномальными, бесконтрольно делятся и высвобождают только один тип антител, известный как парапротеин, не имеющий полезной функции. Он имеет тенденцию накапливаться в костном мозге и циркулировать в крови, и его также можно определять в моче. Миелома поражает множество участков в организме (таким образом являясь "множественной" миеломой), в которых костный мозг в норме у взрослых является активным. Основными формами множественной миеломы (также обозначаемой как миелома) являются активная миелома, плазмоцитома, болезнь легких цепей и несекреторная миелома. Количество новых случаев миеломы в США в 2011 году составляло 6,1 на 100000 населения в год, и процент

пятилетней выживаемости составлял 45%. По имеющимся оценкам количество новых случаев в США в 2014 году будет составлять более 24000 (1,4% всех случаев злокачественных новообразований), в то время как количество смертей в 2014 году будет составлять более 11000 (1,9% всех случаев злокачественных новообразований).

В WO-A-2010/085377 показано, что соединение формулы I обладает исключительной активностью *in vitro* в отношении линий клеток множественной миеломы с активностями в диапазоне в 35-100 раз больше, чем активность, показанная бендамустином.

Лейкоз является типом злокачественного новообразования крови или костного мозга, отличающимся аномальным повышением незрелых лейкоцитов, называемых "бластами". Вместо продуцирования нормальных, функционирующих лейкоцитов для борьбы с инфекцией организм продуцирует большие количества этих нефункциональных бластов. Лейкоз является обширным термином, охватывающим спектр заболеваний. В свою очередь, он является частью даже более широкой группы заболеваний, поражающих кровь, костный мозг и лимфоидную систему, все из которых известны как гематологические неоплазии. Наиболее распространенными формами являются острый лимфобластный лейкоз (ALL), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), острый миелолейкоз (AML) и хронический миелолейкоз (CML), при этом менее распространенные формы включают волосатоклеточный лейкоз (HCL), Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз (T-PLL), Т-клеточный лейкоз из больших зернистых лимфоцитов и Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз. По имеющимся оценкам количество новых случаев в США в 2014 году будет составлять 52000 (3,1% всех новых случаев злокачественных заболеваний в США) с более 24000 смертей (4,1% всех смертей от злокачественных новообразований в США). В настоящее время процент пятилетней выживаемости составляет 57,2%, эта цифра значительно ниже, чем у многих других видов злокачественных новообразований, при этом пятилетняя выживаемость в случае острого миелолейкоза является особенно низкой, лишь 20%.

Лимфома является злокачественным новообразованием лимфатической системы. Существует два основных типа лимфомы, а

именно лимфома Ходжкина и неходжкинская лимфома.

Неходжкинская лимфома является более распространенной формой лимфомой. Лимфатическая система распределена по всему организму, и, таким образом, почти во всех его частях можно найти неходжкинскую лимфому. У пациентов с неходжкинской лимфомой некоторые из их лейкоцитов (лимфоцитов) делятся аномально. У них нет какого-либо времени покоя, как у нормальных клеток, и они начинают непрерывно делиться, таким образом, что их образуется слишком много. Они не погибают так, как делали бы в норме. Эти клетки начинают делиться до полного созревания и, таким образом, они не могут бороться с инфекцией, как нормальные лейкоциты. Все аномальные лимфоциты начинают собираться в лимфоузлах или других местах, таких как костный мозг или селезенка. Затем они могут вырастать в опухоли и начинать вызывать проблемы в лимфатической системе или органе, в котором они растут. Например, если лимфома начинается в щитовидной железе, она может влиять на нормальную продукцию гормонов щитовидной железы. Существует множество разных типов неходжкинской лимфомы. Их можно классифицировать несколькими способами. Одним из них является классификация по типу пораженных клеток. При неходжкинской лимфоме могут поражаться два типа лимфоцитов – В-клетки и Т-клетки. Ее классифицируют как В-клеточную лимфому или Т-клеточную лимфому. Большинство людей с неходжкинской лимфомой имеют В-клеточные лимфомы. Т-клеточные лимфомы более распространены среди подростков и молодежи.

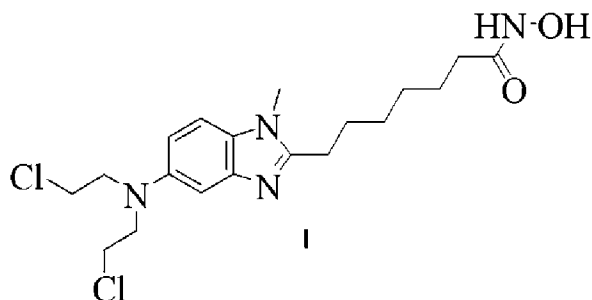
Клетки лимфомы Ходжкина имеют конкретный внешний вид под микроскопом. Эти клетки называют клетками Рид-Штернберга. Неходжкинские лимфомы не имеют клеток Рид-Штернберга. Для врачей важно быть в состоянии распознать разницу между клетками лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы, т.к. они являются двумя разными заболеваниями. При лимфоме Ходжкина в лимфоузлах есть клетки, которые становятся злокачественными.

% выживаемости в течение 5 лет в 2009 году для пациентов с неходжкинской лимфомой составлял 63%, в то время как выживаемость для пациентов с лимфомой Ходжкина за тот же период составлял 83%.

Рак молочной железы является злокачественным новообразованием, образующимся в тканях молочной железы. Наиболее распространенным типом рака молочной железы является протоковая карцинома, начинающаяся в выстилке молочных протоков (тонких трубочек, по которым молоко проходит от долек молочной железы к соску). Другим типом рака молочной железы является лобулярная карцинома, начинающаяся в дольках (молочных железах) молочной железы. Раки молочной железы можно классифицировать на подгруппы как опухоли с низкой экспрессией клаудина, базальные опухоли, опухоли, положительные по рецептору эпидермального фактора роста 2 (HER2) человека, люминальные опухоли типа А и люминальные опухоли типа В. Инвазивный рак молочной железы является раком молочной железы, распространяющимся от места начала в протоках или дольках молочной железы в окружающую нормальную ткань. Рак молочной железы встречается у мужчин и женщин, хотя рак молочной железы у мужчин является редким. По имеющимся оценкам в 2014 году было приблизительно 23300 новых случаев у женщин и 2400 у мужчин с 4000 смертями среди женщин и немногим более 400 смертями среди мужчин.

Приблизительно 15 из каждых 100 женщин с раком молочной железы имеют трижды негативный рак молочной железы, т.е. являющийся эстроген-негативным, прогестерон-негативным и HER2-негативным. Рецидивирующий трижды негативный рак молочной железы является состоянием, ассоциированным со значительной неудовлетворенной потребностью в области медицины по причине его агрессивной биологии, быстрого развития лекарственной устойчивости и отсутствия молекулярных мишеней. До настоящего времени химиотерапия остается стандартом лечения для трижды негативного рака молочной железы на поздней стадии с плохой средней общей выживаемостью.

В WO-A-2010/085377 описывают представленное ниже соединение формулы I. Оно является первой в классе, бифункциональной, алкилирующей HDACi слитой молекулой, мощно ингибирующей путь HDAC.

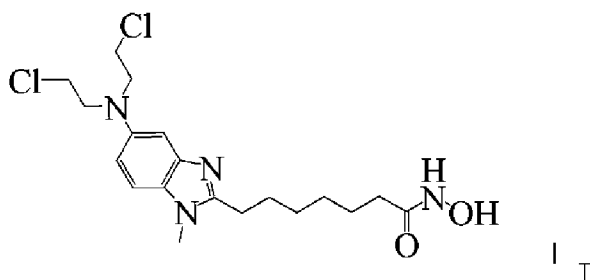


Биологические анализы показали, что соединение формулы I мощно ингибирует фермент HDAC (IC_{50} HDAC1 9 нМ), и показано, что оно имеет исключительную активность *in vitro* в отношении линий клеток множественной миеломы.

Существует потребность в более эффективных способах лечения злокачественных новообразований, включая лечение рака молочной железы и гемобластозов, таких как множественная миелома, лимфома или лейкоз. В настоящее время эти состояния поражают многих людей, и прогноз от среднего до отдаленного не является благоприятным для многих из этих состояний.

Сущность изобретения

Первый аспект настоящего изобретения относится к комбинации, содержащей ингибитор протеасом и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль:



Неожиданно обнаружили, что комбинации соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора протеасом, такого как карфилзомиб или бортезомиб, являются особенно эффективными в лечении злокачественных новообразований, включая гемобластозы, такие как множественная миелома, лимфома и лейкоз, и рак молочной железы, таким образом, что они весьма перспективны в попытках решения проблемы поиска более эффективных способов лечения злокачественных новообразований. Комбинации могут необязательно дополнительно содержать глюкокортикоид, такой как дексаметазон. Эти дополнительные

комбинации также являются особенно эффективными в лечении злокачественного новообразования.

Второй аспект настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель и комбинацию по первому аспекту настоящего изобретения.

Третий аспект настоящего изобретения относится к набору, содержащему комбинацию по первому аспекту настоящего изобретения и, необязательно, инструкции по лечению пациента.

Четвертый аспект настоящего изобретения относится к комбинации, композиции или набору по первому, второму или третьему аспекту настоящего изобретения для применения в лечении злокачественного новообразования.

Пятый аспект настоящего изобретения относится к способу лечения злокачественного новообразования у нуждающегося в этом пациента, включающему введение указанному пациенту комбинации, композиции или набора по первому, второму или третьему аспекту настоящего изобретения.

Шестой аспект настоящего изобретения относится к соединению формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли для применения в лечении рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломы. В одном из вариантов осуществления соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль предназначены для применения в лечении рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломы в комбинации с ингибитором протеасом и, необязательно, дополнительно в комбинации с глюкокортикоидом.

Седьмой аспект настоящего изобретения относится к способу лечения рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломы у нуждающегося в этом пациента, включающему введение указанному пациенту соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли. В одном из вариантов осуществления соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль вводят в комбинации с ингибитором протеасом и его также можно необязательно дополнительно вводить в комбинации с глюкокортикоидом.

Краткое описание чертежей

Фигура 1 является графиком % выживших *in vitro* клеток множественной миеломы MM1S в виде % контроля относительно концентрации для различных тестируемых соединений после инкубации в течение 48 часов, для отдельных соединений и в виде комбинаций (двойных и тройных);

Фигура 2 является графиком % выживших *in vitro* клеток множественной миеломы MM1S в виде % контроля относительно концентрации для различных тестируемых соединений после инкубации в течение 72 часов, для отдельных соединений и комбинаций (двойных и тройных);

Фигура 3 является графиком роста опухоли (мм³) относительно количества дней исследования для различных тестируемых соединений в случае мышей CB17-SCID, подкожно инокулированных в правый бок с использованием 3×10^6 клеток MM1S, для отдельных соединений и комбинаций;

Фигура 4 является графиком % выживших *in vitro* клеток множественной миеломы RPMI8226 в виде % контроля относительно концентрации для различных тестируемых соединений после инкубации в течение 48 часов для отдельных соединений и комбинаций (двойных);

Фигура 5 является графиком % выживших *in vitro* клеток множественной миеломы 2013-10-16 MTS AMO abzб в виде % контроля относительно концентрации для различных тестируемых соединений после инкубации в течение 48 часов для отдельных соединений и комбинаций (двойных);

Фигура 6 является графиком % выживших *in vitro* клеток мантийной зоны 2014-01-15 MTS Jeko лимфомы в виде % контроля относительно концентрации для различных тестируемых соединений после инкубации в течение 48 часов для отдельных соединений и комбинаций (двойных);

Фигура 7 является графиком % выживших *in vitro* клеток мантийной зоны 2014-01-15 MTS Granta лимфомы в виде % контроля относительно концентрации для различных тестируемых соединений после инкубации в течение 48 часов для отдельных соединений и

комбинаций (двойных);

Фигура 8 является графиком % выживших *in vitro* клеток базального рака молочной железы 2014-02-21 MTS MDA-MB468 в виде % контроля относительно концентрации для различных тестируемых соединений после инкубации в течение 48 часов для отдельных соединений и комбинаций (двойных);

Фигура 9 является графиком % выживших *in vitro* клеток промиелоцитарного лейкоза MTS HL-60 в виде % контроля относительно концентрации для различных тестируемых соединений после инкубации в течение 48 часов для отдельных соединений и комбинаций (двойных);

Фигура 10 является графиком % выживших *in vitro* клеток острого миелолейкоза MTS U937 в виде % контроля относительно концентрации для различных тестируемых соединений после инкубации в течение 48 часов для отдельных соединений и комбинаций (двойных);

Фигура 11 является графиком % выживших *in vitro* клеток В-клеточной лимфомы BJAB (линии клеток зародышевого центра) в виде % контроля относительно концентрации для различных тестируемых соединений после инкубации в течение 48 часов для отдельных соединений и комбинаций (двойных);

Фигура 12 является графиком % выживших *in vitro* клеток В-клеточной лимфомы OsiLy3 (типа ABC) в виде % контроля относительно концентрации для различных тестируемых соединений после инкубации в течение 48 часов для отдельных соединений и комбинаций (двойных);

Фигура 13 является графиком % выживших *in vitro* клеток В-клеточной лимфомы TMD8 (типа ABC) в виде % контроля относительно концентрации для различных тестируемых соединений после инкубации в течение 48 часов для отдельных соединений и комбинаций (двойных);

Фигура 14 является графиком % выживших *in vitro* клеток трижды негативного рака молочной железы BT-549 в виде % контроля относительно концентрации для различных тестируемых соединений после инкубации в течение 48 часов для отдельных соединений и комбинаций (двойных); и

Фигура 15 является графиком % выжившей фракции *in vitro* линий клеток глиобластома T98G, U251MG и U87MG относительно дозы лучевой терапии (Гр) в комбинации с двумя разными концентрациями соединения формулы I (EDO-S101) относительно контроля только с лучевой терапией.

Подробное описание изобретения

В настоящей заявке используют ряд общих терминов и фраз, которые следует интерпретировать следующим образом.

Термин "животное" включает людей, не относящихся к человеку млекопитающих (например, собак, кошек, кроликов, верблюдов, лошадей, овец, коз, свиней, оленей и т.п.) и немлекопитающих (например, птиц и т.п.).

Термин "фармацевтически приемлемые соли" означает соли соединений по настоящему изобретению, являющиеся фармацевтически приемлемыми, как определено выше, и обладающими желаемой фармакологической активностью. Такие соли включают кислые соли присоединения, образованные неорганическими кислотами или органическими кислотами. Фармацевтически приемлемые соли также включают основные соли присоединения, которые могут образовываться, когда присутствующие протоны кислоты способны реагировать с неорганическими или органическими основаниями. Как правило, такие соли, например, получают посредством реакции свободных кислотных или основных форм этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе или в их смеси. Как правило, неводные среды, подобные простому эфиру, этилацетату, этанолу, изопропанолу или ацетонитрилу, являются предпочтительными. Примеры кислых солей присоединения включают соли присоединения неорганических кислот, такие как, например, гидрохлорид, гидробромид, гидроиодид, сульфат, бисульфаты, сульфамат, нитрат, фосфат, и соли присоединения органических кислот, такие как, например, ацетат, трифторацетат, малеат, фумарат, цитрат, оксалат, сукцинат, тартрат, салицилат, тозилат, лактат, нафталинсульфонат, малат, манделат, метансульфонат и р-толуолсульфонат. Примеры щелочных солей присоединения включают

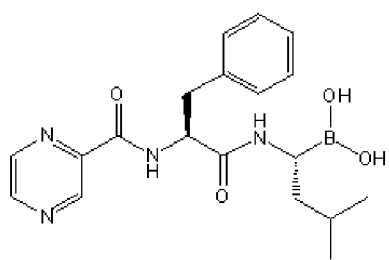
неорганические соли, такие как, например, соли натрия, калия, кальция и аммония, и органические щелочные соли, такие как, например, соли этилендиамина, этаноламина, N,N-диалкиленэтанолamina, триэтанолamina и основных аминокислот.

Неожиданно обнаружили, что комбинации соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора протеасом, такого как карфилзомиб или бортезомиб, являются особенно эффективными в лечении злокачественных новообразований, включая гемобластозы, такие как множественная миелома, лейкоз и лимфома, и рак молочной железы таким образом, что они весьма перспективны в попытках решения проблемы поиска более эффективных способов лечения злокачественного новообразования. Комбинации необязательно могут дополнительно содержать глюкокортикоид, такой как дексаметазон. Эти дополнительные комбинации также являются особенно эффективными в лечении злокачественного новообразования.

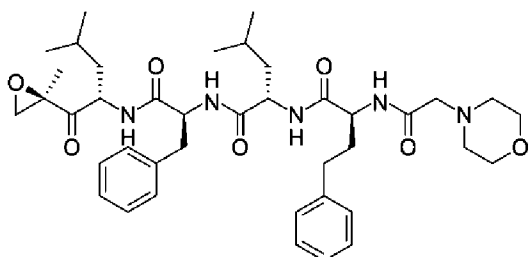
В комбинации по настоящему изобретению фармацевтически приемлемая соль соединения формулы I предпочтительно может являться гидрохлоридом, гидробромидом, гидроидидом, сульфатом, бисульфатами, сульфаматом, нитратом, фосфатом, цитратом, метансульфонатом, трифторацетатом, глутаматом, глюкуронатом, глутаратом, малатом, малеатом, сукцинатом, fumarатом, тартратом, тозилатом, салицилатом, лактатом, нафталинсульфонатом или ацетатом, и более предпочтительно – ацетатом.

В комбинации по настоящему изобретению ингибитор протеасом предпочтительно можно выбирать из группы, состоящей из бортезомиба, карфилзомиба, маризомиба, деланзомиба (CEP-18770), опрозомеба (ONX 0912), иксазомиба (MLN-9708) и LU-102 или их фармацевтически приемлемой соли. Особенно предпочтительно, ингибитор протеасом можно выбирать из бортезомиба, карфилзомиба и LU-102.

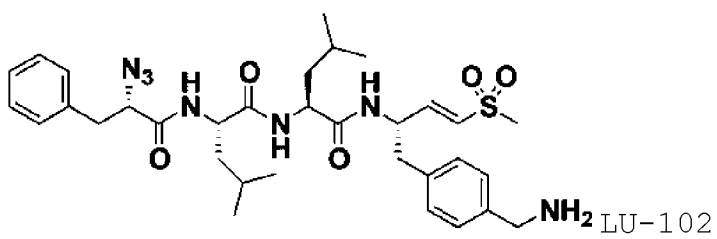
Структуры этих ингибиторов протеасом являются следующими:



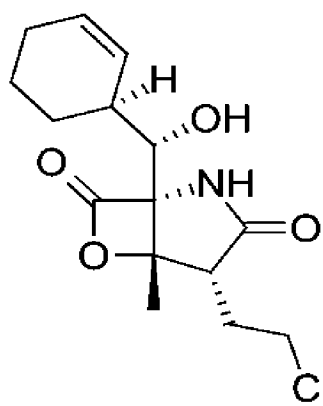
Бортезомиб



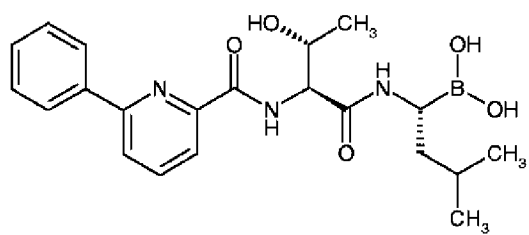
Карфилзомиб



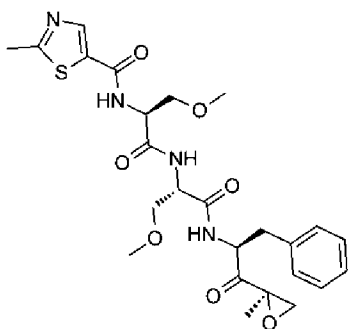
LU-102



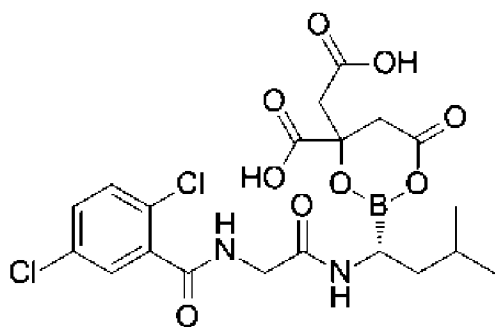
Маризомиб



Деланзомиб



Опрозомиб



Иксазомиб

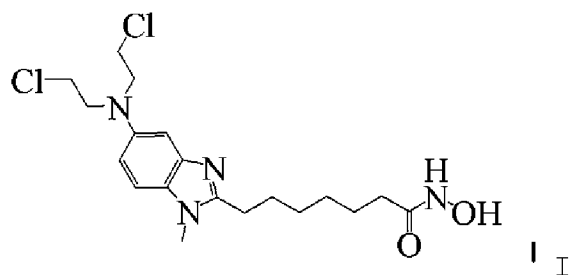
Комбинация по настоящему изобретению может дополнительно содержать глюкокортикоид. В этом варианте осуществления комбинации по настоящему изобретению глюкокортикоид предпочтительно можно выбирать из группы, состоящей из дексаметазона, флуоцинолона ацетонида и преднизона, и наиболее предпочтительным является дексаметазон.

В дополнительной предпочтительной комбинации по настоящему изобретению, содержащей соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль, ингибитор протеасом и, необязательно, глюкокортикоид, указанная комбинация может дополнительно содержать одно или несколько дополнительных фармацевтически активных средств. Особенно подходящими фармацевтически активными средствами являются противоопухолевые средства, имеющие механизм действия, отличающийся от такового у соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, ингибитора протеасом и глюкокортикоида, например, алкилирующие средства, такие как нитрозомочевины, этиленимины, алкилсульфонаты, гидразины и триазины и средства на основе платины; растительные алкалоиды, таксаны, алкалоиды барвинка; противоопухолевые антибиотики, такие как хромомицины, антрациклины, и различные антибиотики, такие как митомицин и блеомицин; антиметаболиты, такие как антагонисты фолиевой кислоты, антагонисты пиримидина, антагонисты пурина и ингибиторы аденозиндезаминазы; ингибиторы топоизомераз, такие как ингибиторы топоизомеразы I, ингибиторы топоизомеразы II, различные противоопухолевые средства, такие как ингибиторы рибонуклеотидредуктазы, ингибитор адренокортикостероидов, ингибиторы микротрубочек и ретиноиды; протеинкиназы; белки теплового шока, поли- (АДФ (аденозин дифосфат) -рибоза) -

полимераза (PARP), гипоксия-индуцируемые факторы (HIF), протеасома, сигнальные белки Wnt/Hedgehog/Notch, ФНО, матричная металлопротеиназа, фарнезилтрансфераза, путь апоптоза, гистондеацетилазы (HDAC), гистонацетилтрансферазы (HAT) и метилтрансфераза; способы гормональной терапии, средство, разрушающее сосуды, генотерапия, терапия злокачественных новообразований на основе РНКи, хемопротективные средства, конъюгат антител, иммунотерапия злокачественных новообразований, таких как интерлейкин-2, противораковые вакцины или моноклональные антитела; и, предпочтительно, средства, повреждающие ДНК, антиметаболиты, ингибиторы топоизомераз, ингибиторы микротрубочек, ингибиторы EGFR, ингибиторы HER2, ингибиторы VEGFR2, ингибиторы BRAF, ингибиторы Bcr-Abl, ингибиторы PDGFR, ингибиторы ALK, ингибиторы PLK, ингибиторы MET, эпигенетические средства, ингибиторы HSP90, ингибиторы PARP, ингибиторы CHK, ингибитор ароматазы, антагонист эстрогенового рецептора и антитела против VEGF, HER2, EGFR, CD50, CD20, CD30, CD33 и т.д.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления комбинации по настоящему изобретению ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, при наличии, глюкокортикоид адаптируют для одновременного, последовательного или раздельного введения. Предпочтительно, ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, при наличии, глюкокортикоид адаптируют для одновременного введения.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления комбинации по настоящему изобретению ингибитор протеасом выбран из бортезомиба, карфилзомиба и LU-102, и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль представляет собой



или его ацетатную соль. В одном из вариантов осуществления этой комбинации она может дополнительно содержать глюкокортикоид, где указанный глюкокортикоид является дексаметазоном.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления комбинации по настоящему изобретению молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в указанной комбинации составляет от 1:1000 до 1000:1. Предпочтительно, молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в указанной комбинации составляет от 1:1000 до 10:1, более предпочтительно – от 1:800 до 1:200 или от 1:5 до 1:0,5, и наиболее предпочтительно – от 1:700 до 1:400 или от 1:3 до 1:0,5, например, 1:1000, 1:900, 1:800, 1:700, 1:600, 1:500, 1:400, 1:10, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1 или 1:0,5.

Одна особенно предпочтительная комбинация по настоящему изобретению содержит соединение формулы I или его ацетатную соль и ингибитор протеасом, выбранный из бортезомиба и карфилзомиба, где молярное отношение ингибитора протеасом, выбранного из бортезомиба и карфилзомиба, к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в указанной комбинации составляет от 1:700 до 1:400, например, 1:700, 1:600, 1:500 или 1:400. Другая особенно предпочтительная комбинация по первому аспекту настоящего изобретения содержит соединение формулы I или его ацетатную соль и ингибитор протеасом, выбранный из LU-102, где молярное отношение LU-102 к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в указанной комбинации составляет от 1:3 до 1:0,5, например, 1:3, 1:2, 1:1 или 1:0,5.

Неожиданно обнаруживали, что комбинации, содержащие ингибитор протеасом и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль, являются синергическими комбинациями. Другими словами, измеряли активность комбинаций с использованием программного обеспечения CalcuSyn (biosoft, Ferguson, MO, USA), основанного на способе Chou Talay (Chou et

al., *Adv. Enzyme Regul.*, 22, 27-55 (1984)), с помощью которого вычисляют индекс комбинации (CI) со следующей интерпретацией:

CI >1 : антагонистический эффект, CI=1: аддитивный эффект и CI <1 : синергическое действие.

В настоящей работе обнаруживали, что в случае многих двойных комбинаций по изобретению, содержащих ингибитор протеасом и соединение формулы I или фармацевтически приемлемую соль, CI составляет менее 1, что свидетельствует о синергии.

Другой предпочтительный вариант осуществления комбинации по настоящему изобретению дополнительно содержит глюкокортикоид в дополнение к ингибитору протеасом и соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, где молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли к глюкокортикоиду в указанной комбинации составляет от 1:1000:20 до 1000:1:20. Предпочтительно, молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли к глюкокортикоиду в указанной комбинации составляет от 1:1000:10 до 1:100:2. Предпочтительно, молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли к глюкокортикоиду, используемому в указанной комбинации, составляет от 1:1000:5 до 1:200:2, более предпочтительно – от 1:700:4 до 1:400:3, например, 1:1000:5, 1:900:5, 1:800:4, 1:700:4, 1:600:4, 1:500:3 или 1:400:3.

Одна особенно предпочтительная комбинация по настоящему изобретению содержит ингибитор протеасом, выбранный из бортезомиба и карфилзомиба, соединение формулы I или его ацетатную соль и дексаметазон, где молярное отношение ингибитора протеасом, выбранного из бортезомиба и карфилзомиба, к соединению формулы I или его ацетатной соли к дексаметазону в указанной комбинации составляет от 1:700:4 до 1:400:3, например, 1:700:4, 1:700:3, 1:600:4, 1:600:3, 1:500:3 или 1:400:3. Другая особенно предпочтительная комбинация по первому аспекту настоящего изобретения содержит ингибитор протеасом, выбранный из LU-102, соединение формулы I или его ацетатную соль и дексаметазон, где молярное отношение LU-102 к соединению

формулы I или его ацетатной соли к дексаметазону в указанной комбинации составляет от 1:3:4 до 1:0,5:3, например, 1:3:4, 1:3:3, 1:2:4, 1:2:3, 1:1,:4, 1:1:3 или 1:0,5:3.

Также неожиданно обнаруживали, что многие из тройных комбинаций по настоящему изобретению, содержащих ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и глюкокортикоид, также являются синергическими комбинациями, т.е. обнаруживали, что индекс комбинации CI составляет менее 1.

Фармацевтическая композиция по второму аспекту настоящего изобретения содержит фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель и комбинацию по первому аспекту настоящего изобретения. Предпочтительные композиции по второму аспекту настоящего изобретения включают композиции, содержащие предпочтительные комбинации по настоящему изобретению, описанные выше. Фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель из фармацевтической композиции по второму аспекту настоящего изобретения может являться любым подходящим дисперсантом, эксципиентом, вспомогательным средством или другим материалом, действующим как носитель для активных средств из комбинации по настоящему изобретению и не противодействующим активным средствам, присутствующим в указанной комбинации. Примеры типичных фармацевтически приемлемых носителей и разбавителей можно найти в "Remington's Pharmaceutical Sciences" E. W. Martin, и они включают воду, физиологический раствор, раствор декстрозы, раствор сыворотки, раствор Рингера, полиэтиленгликоль (например, PEG400), поверхностно-активное вещество (например, кремофор), циклополисахарид (например, гидроксипропил- β -циклодекстрин или сульфобутиловый простой эфир β -циклодекстринов), полимер, липосому, мицеллу, наносферу и т.д.

Третий аспект по настоящему изобретению относится к набору, содержащему комбинацию по первому аспекту настоящего изобретения и, необязательно, инструкции по лечению пациента. Как правило, набор может содержать соединение формулы I или его

фармацевтически приемлемую соль, ингибитор протеасом и глюкокортикоид вместе с инструкциями по лечению пациента. Каждое активное средство можно предоставлять в подходящем контейнере. Набор может дополнительно содержать систему доставки, например, для соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, ингибитора протеасом или глюкокортикоида или любой их комбинации.

В инструкциях могут быть рекомендации по одновременному, последовательному или разделённому введению ингибитора протеасом, соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли и, при наличии, глюкокортикоида из комбинации в соответствии с такими параметрами, как конкретное состояние, подлежащее лечению, степень состояния, активность конкретных используемых соединений; конкретная используемая комбинация; возраст, масса тела, общее состояние здоровья, пол и питание пациента; время введения, путь введения и скорость экскреции конкретных используемых соединений; длительность лечения; лекарственные средства, используемые в комбинации или одновременно с конкретными используемыми соединениями; и подобные факторы, хорошо известные в области медицины. Предпочтительные наборы по третьему аспекту настоящего изобретения включают наборы, содержащие предпочтительные комбинации по настоящему изобретению, как описано выше.

Четвертый аспект настоящего изобретения относится к комбинации, композиции или набору по первому, второму или третьему аспекту настоящего изобретения для применения в лечении злокачественного новообразования.

Пятый аспект настоящего изобретения относится к способу лечения злокачественного новообразования у нуждающегося в этом пациента, включающему введение указанному пациенту комбинации, композиции или набора по первому, второму или третьему аспекту настоящего изобретения.

Обнаруживали, что комбинации, композиции и наборы по настоящему изобретению являются высокоактивными *in vitro* и *in vivo* в отношении широкого спектра типов клеток опухолей. Противоопухолевая активность, продемонстрированная двойными и

тройными комбинациями по настоящему изобретению и комбинациями в композициях и наборах по настоящему изобретению, во многих случаях является больше, чем просто аддитивной, демонстрируя индексы комбинаций CI значительно меньше 1, что свидетельствует о синергии в случае этих комбинаций. Этот неожиданный результат является дополнительным подтверждением особенной эффективности комбинаций, композиций и наборов по настоящему изобретению в лечении злокачественного новообразования.

Примеры злокачественных новообразований, подлежащих лечению посредством комбинаций, композиций и наборов по настоящему изобретению, включают гемобласты, такие как множественная миелома, лимфома и лейкоз, рак молочной железы, рак легких, колоректальный рак, рак предстательной железы, рак яичка, рак поджелудочной железы, рак печени, рак желудка, рак желчных протоков, рак пищевода, желудочно-кишечные стромальные опухоли, рак шейки матки, рак яичников, рак матки, злокачественная опухоль почки, меланома, базально-клеточная карцинома, плоскоклеточная карцинома, рак мочевого пузыря, саркома, мезотелиома, тимома, миелодиспластический синдром, глиобластома и миелопролиферативное заболевание. В частности, комбинации, композиции и наборы по настоящему изобретению являются эффективными в отношении гемобласта, такого как множественная миелома, лимфома и лейкоз, и рак молочной железы.

В одном из вариантов осуществления комбинации, композиция или набор для применения в лечении злокачественного новообразования по четвертому аспекту настоящего изобретения или способ лечения по пятому аспекту настоящего изобретения, злокачественное новообразование выбрано из гемобласта и рака молочной железы.

Если комбинация, композиция или набор по настоящему изобретению предназначены для применения в лечении гемобласта, предпочтительно, его можно выбирать из множественной миеломы (например, активной миеломы, плазмцитомы, болезни легких цепей или несекреторной миеломы, при этом все формы подлежат лечению на всех стадиях, включая

рецидивирующие и рефрактерные фазы), лимфомы (например, лимфомы Ходжкина или неходжкинской лимфомы) и лейкоза [острого лимфобластного лейкоза (ALL), хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), острого миелолейкоза (AML, включая миелобластный лейкоз, острый промиелоцитарный лейкоз, острый миеломоноцитарный лейкоз, острый моноцитарный лейкоз, острый эритролейкоз и острый мегакариоцитарный лейкоз, при этом все формы подлежат лечению на всех стадиях, включая рецидивирующие и рефрактерные стадии), хронического миелолейкоза (CML), волосатоклеточного лейкоза (HCL), Т-клеточного пролимфоцитарного лейкоза (T-PLL), лейкоза из больших зернистых лимфоцитов или Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза].

Если комбинация, композиция или набор по настоящему изобретению предназначены для применения в лечении рака молочной железы, рак молочной железы, как правило, можно выбирать из опухолей с низкой экспрессией клаудина, базальных опухолей, опухолей, положительных по рецептору эпидермального фактора роста 2 (HER2) человека, люминальных опухолей типа А и люминальных опухолей типа В, и, предпочтительно, он является трижды негативным раком молочной железы.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления комбинации, композиции или набора для применения в лечении злокачественного новообразования по настоящему изобретению и способа лечения злокачественного новообразования по настоящему изобретению ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, при наличии, глюкокортикоид вводят одновременно, последовательно или раздельно. Более предпочтительно, ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, при наличии, глюкокортикоид вводят одновременно.

В комбинации для применения в лечении злокачественного новообразования и способе лечения злокачественного новообразования в соответствии с настоящим изобретением соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль, как правило, вводят нуждающемуся в этом пациенту в диапазоне доз от 10 до 100 мг/кг массы тела пациента, и предпочтительно -

в диапазоне доз от 40 до 80 мг/кг массы тела пациента. Как правило, ингибитор протеасом вводят нуждающемуся в этом пациенту в диапазоне доз от 0,01 до 0,3 мг/кг массы тела пациента, более предпочтительно – в диапазоне доз от 0,05 до 0,15 мг/кг массы тела пациента. Если глюкокортикоид также вводят в комбинации, глюкокортикоид, как правило, вводят в диапазоне доз от 0,1 до 1 мг/кг массы тела пациента. Предпочтительно, его вводят в диапазоне доз от 0,3 до 0,5 мг/кг массы тела пациента.

Терапевтически эффективное количество комбинации, композиции или набора по настоящему изобретению является количеством комбинации, композиции или набора, обладающим терапевтическим эффектом по четвертому и пятому аспектам по настоящему изобретению в отношении подвергаемого лечению индивидуума, при разумном соотношении пользы/риска, применимом к любому способу лечения. Терапевтический эффект может являться объективным (т.е. измеряемым посредством какого-либо теста или маркера) или субъективным (т.е. индивидуум имеет признак или чувствует эффект). Считают, что эффективное количество комбинации, композиции или набора по настоящему изобретению является количеством, при котором соединение формулы I или его соль включают в комбинацию в диапазоне доз от 10 до 100 мг/кг массы тела пациента (например, от 40 до 80 мг/кг массы тела, такого как 40, 50, 60, 70 или 80 мг/кг массы тела), ингибитор протеасом включают в диапазоне доз от 0,01 до 0,3 мг/кг массы тела пациента (например, от 0,1 до 1 мг/кг, такого как 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 или 0,5 мг/кг массы тела) и глюкокортикоид включают в диапазоне доз от 0,03 до 1 мг/кг массы тела пациента (например, от 0,3 до 0,5 мг/кг массы тела пациента, такого как 0,3, 0,4 или 0,5 мг/кг массы тела пациента).

Эффективные дозы будут варьироваться в зависимости от пути введения, а также возможности совместного использования с другими активными средствами. Однако следует понимать, что общее суточное использование комбинаций, композиций и наборов по настоящему изобретению будет определять лечащий врач в пределах медицинских показаний. Конкретный уровень

терапевтически эффективной дозы для любого конкретного пациента будет зависеть от множества факторов, включая нарушение, подвергаемое лечению, и тяжесть нарушения; активность конкретного используемого соединения; конкретной используемой композиции; возраста, массы тела, общего состояния здоровья, пола и питания пациента; времени введения, пути введения, и скорости экскреции конкретного используемого соединения; длительности лечения; лекарственных средств, используемых в комбинации или одновременно с конкретным используемым соединением; и подобных факторов, хорошо известных в области медицины.

Настоящее изобретение также относится к применению комбинации, композиции или набора по первому, второму или третьему аспекту настоящего изобретения в производстве лекарственного средства для лечения злокачественного новообразования, например, для лечения гемобластоза или рака молочной железы.

Подходящие примеры формы введения комбинации, композиции или набора по настоящему изобретению включают, в качестве неограничивающих примеров, пероральные, местные, парентеральные, сублингвальные, ректальные, вагинальные, глазные и интраназальные. Парентеральное введение включает подкожные инъекции, внутривенные, внутримышечные, интратеральные инъекции или способы инфузии. Предпочтительно, комбинации, композиции и наборы вводят парентерально. Комбинации и композиции по изобретению можно составлять так, чтобы позволить комбинации или композиции по настоящему изобретению быть биодоступной после введения комбинации или композиции животному, предпочтительно - человеку. Композиции могут иметь форму одной или нескольких единиц дозирования, где, например, таблетка может являться единицей дозирования для однократного введения, и контейнер комбинации или композиции по настоящему изобретению в аэрозольной форме может содержать множество единиц дозирования.

Предпочтительно, комбинации по настоящему изобретению предоставляют в форме наборов. Как правило, набор включает

ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, необязательно, глюкокортикоид. В определенных вариантах осуществления набор может включать одну или несколько систем доставки, например, ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, необязательно, глюкокортикоид, или любую их комбинацию, и руководства по использованию набора (например, инструкции по лечению индивидуума). В этих руководствах/инструкциях могут быть рекомендации по одновременному, последовательному или разделённому введению ингибитора протеасом, соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли и, при наличии, глюкокортикоида из комбинации в соответствии с такими показателями, как конкретное состояние, подлежащее лечению, стадия этого состояния, активность конкретных используемых соединений; конкретная используемая комбинация; возраст, масса тела, общее состояние здоровья, пол и питание пациента; время введения, путь введения и скорость экскреции конкретных используемых соединений; длительность лечения; лекарственные средства, используемые в комбинации или одновременно с конкретными используемыми соединениями; и подобными факторами, хорошо известными в области медицины.

Фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель может находиться в форме твердых частиц, таким образом, что композиции, например, находятся в форме таблетки или порошка. Носители могут являться жидкими, при этом комбинации, композиции или наборы являются, например, пероральным сиропом или инъектируемой жидкостью. Кроме того, носители могут являться газообразными, таким образом, что получают аэрозольную композицию, применимую, например, в ингаляционном введении. Такие фармацевтические носители могут являться жидкостями, такими как вода и масла, включая масла из нефтепродуктов, масла животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, сезамовое масло и т.п. Носителями могут являться физиологический раствор, гуммиарабик, желатин, крахмальная

паста, тальк, кератин, коллоидный диоксид кремния, мочеви́на, и т.п. Кроме того, можно использовать вспомогательное средство, стабилизатор, загуститель, смазочное средство и красители. В одном из вариантов осуществления при введении животному, комбинация, композиция или набор по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемые носители являются стерильными. Вода является предпочтительным носителем при внутривенном введении комбинации или композиции по настоящему изобретению. Физиологические растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также можно использовать в качестве жидких носителей, в частности, для инъектируемых растворов. Подходящие фармацевтические носители также включают эксципиенты, такие как крахмал, глюкоза, лактоза, сахароза, желатин, мальтоза, рисовый крахмал, мука, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропиленгликоль, вода, этанол и т.п. Композиции по настоящему изобретению, при желании, также могут содержать незначительные количества увлажнителей, или эмульгаторов, или pH-буферных средств.

В случае перорального введения, комбинация, композиция или набор могут находиться в твердой или жидкой форме, при этом полутвердые, полужидкие, суспензионные и гелевые формы включены в формы, рассматриваемые в настоящем описании как твердые или жидкие.

В качестве твердой композиции для перорального введения, комбинацию, композицию или набор можно составлять в порошке, грануле, прессованной таблетке, пилюле, капсуле, жевательной резинке, пластинке или подобной форме. Такая твердая композиция, как правило, содержит один или несколько инертных разбавителей в виде отдельной таблетки, содержащей все активные средства или в виде ряда отдельных твердых композиций, каждая из которых содержит одно активное средство из комбинации по настоящему изобретению (в случае набора). Кроме того, может присутствовать одно или несколько из следующего: связывающих средств, таких как карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза или желатин; эксципиентов, таких

как крахмал, лактоза или декстрины, веществ для улучшения распадаемости, таких как альгиновая кислота, альгинат натрия, кукурузный крахмал и т.п.; смазочных средств, таких как стеарат магния; глидантов, таких как коллоидный диоксид кремния; подсластителей, таких как сахароза или сахарин; ароматизаторов, таких как мятное масло, метилсалицилат или апельсиновый ароматизатор; и краситель.

Если комбинация или композиция находится в форме капсулы (например, желатиновой капсулы), она может содержать, в дополнение к материалам указанного выше типа, жидкий носитель, такой как полиэтиленгликоль, циклодекстрин или жирное масло.

Комбинация, композиция или набор могут находиться в форме жидкости, например, эликсира, сиропа, раствора, эмульсии или суспензии. Жидкость может быть применима для перорального введения или для доставки посредством инъекции. В случае перорального введения комбинация, композиция или набор может содержать один или несколько из подсластителя, консервантов, красителя и усилителя вкуса и запаха. В комбинации или композиции для введения посредством инъекции также можно включать один или несколько из поверхностно-активного вещества, консерванта, увлажнителя, диспергирующего средства, суспендирующего средства, буфера, стабилизатора и изотонического средства. В наборе по настоящему изобретению жидкие компоненты, содержащие одно или несколько из активных средств из композиции, можно комбинировать до введения и вводить одновременно, или каждое активное средство можно вводить последовательно или раздельно.

Предпочтительным путем введения является парентеральное введение, включая, в качестве неограничивающих примеров, внутрикожное, внутримышечное, интраперитонеальное, внутривенное, подкожное, интраназальное, эпидуральное, интраназальное, интрацеребральное, внутрижелудочковое, интратекальное, внутривлагалищное или трансдермальное. Предпочтительный способ введения остается на усмотрение практикующего врача и будет частично зависеть от очага медицинского состояния (такого как участок злокачественного

новообразования). В более предпочтительном варианте осуществления комбинации, композиции и наборы по настоящему изобретению вводят внутривенно.

Жидкие комбинации, композиции и наборы по изобретению, являются ли они растворами, суспензиями или т.п., также могут включать одно или несколько из следующего: стерильных разбавителей, таких как вода для инъекций, физиологический раствор, предпочтительно, физиологический раствор, раствор Рингера, изотонический хлорид натрия, жирных масел, таких как синтетические моно- или диглицериды, полиэтиленгликоли, глицерин или другие растворители; антибактериальных средств, таких как бензиловый спирт или метилпарабен; и средств для регуляции тоничности, таких как хлорид натрия или декстроза. Парентеральную комбинацию или композицию можно заключать в ампулу, одноразовый шприц или сосуд для многократного использования, сделанный из стекла, пластика или другого материала. Физиологический раствор является предпочтительным вспомогательным веществом.

В случае введения (например, внутривенного) комбинация, композиция или набор, как правило, могут содержать соединение формулы I или его соль в диапазоне доз от 10 до 100 мг/кг массы тела пациента, ингибитор протеасом в диапазоне доз от 0,01 до 0,3 мг/кг массы тела пациента и глюкокортикоид в диапазоне доз от 0,03 до 1 мг/кг массы тела пациента. Более предпочтительно, комбинация, композиция или набор, как правило, могут содержать соединение формулы I или его соль в диапазоне доз от 40 до 80 мг/кг массы тела пациента, ингибитор протеасом в диапазоне доз от 0,05 до 0,15 мг/кг массы тела пациента и глюкокортикоид в диапазоне доз от 0,3 до 0,5 мг/кг массы тела пациента.

Комбинации по изобретению можно составлять таким образом, что ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, при наличии, необязательный глюкокортикоид из комбинации адаптируют для одновременного, последовательного или раздельного введения. Предпочтительно, их вводят одновременно.

Комбинацию, композицию или набор по настоящему изобретению

можно вводить любым удобным путем, например, посредством инфузии или болюсной инъекции, посредством абсорбции через эпителиальные или слизистые выстилки.

В конкретных вариантах осуществления желательным может являться введение одной или нескольких комбинаций, композиций или наборов по настоящему изобретению или комбинаций, композиций или наборов местно в область, нуждающуюся в лечении. В одном из вариантов осуществления введение можно осуществлять посредством прямой инъекции в участок (или бывший участок) злокачественного новообразования, опухоли или неопластической или пренеопластической ткани.

Также можно использовать легочное введение, например, с использованием ингалятора или небулайзера и состава с аэрозольным средством или посредством перфузии во фторуглероде или синтетическом легочном сурфактанте. В определенных вариантах осуществления комбинацию, композицию или набор по настоящему изобретению или композиции можно составлять в виде суппозитория с общепринятыми связывающими средствами и носителями, такими как триглицериды.

Комбинация, композиция или набор по настоящему изобретению могут иметь форму растворов, суспензий, эмульсии, таблеток, пилюль, пеллетов, капсул, капсул, содержащих жидкости, порошков, составов с замедленным высвобождением, суппозиториев, эмульсий, аэрозолей, спреев, суспензий или любых других форм, пригодных для использования. Другие примеры подходящих фармацевтических носителей описывает E. W. Martin в "Remington's Pharmaceutical Sciences".

Фармацевтические комбинации, композиции и наборы можно получать с использованием методологии, хорошо известной в области фармацевтики. Например, композицию, предназначенную для введения посредством инъекции, можно получать посредством комбинирования компонентов набора по настоящему изобретению с водой для получения раствора. Можно добавлять поверхностно-активное вещество для облегчения образования гомогенного раствора или суспензии.

Комбинации, композиции и наборы по настоящему изобретению

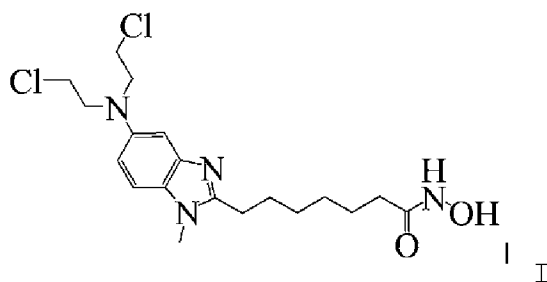
являются особенно эффективными в лечении злокачественного новообразования.

Показано, что комбинации по настоящему изобретению имеют исключительную активность в отношении широкого спектра типов опухолевых клеток *in vitro* и *in vivo*, что делает их особенно интересными для разработки для применения в лечении злокачественного новообразования, например, гемобластоза и рака молочной железы.

В настоящей работе также обнаружено, что соединение формулы I или его соль можно вводить в комбинации с лучевой терапией в лечении глиобластомы. Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что комбинация соединения формулы I или его соли вместе с лучевой терапией являлась гораздо более эффективной, чем лучевая терапия в отдельности. На современном уровне техники в WO 2013/113838 существует описание данных для соединения формулы I, тестируемого на линиях клеток злокачественного новообразования ЦНС (глиомы) SF-268, SF-295, SF-539, SNB-19, SNB-75 и U-251. Это позволяет предполагать активность соединения формулы I при его использовании в отношении глиобластомы.

Примеры

В следующих примерах соединение, имеющее следующую формулу I, обозначают как EDO-S101 (или EDO на фигурах):



Пример 1. Комбинации EDO-S101 *in vitro* - линия клеток множественной миеломы MM1S

EDO-S101 комбинировали *in vitro* с бортезомибом и дексаметазоном в линии клеток множественной миеломы MM1S, любезно предоставленной Steven Rosen из Northwestern University, Chicago, IL, USA. Активность измеряли с помощью анализа MTT, основанного на метаболическом восстановлении

бромид из 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразола (МТТ), продуцируемого митохондриальным ферментом сукцинатдегидрогеназой, превращающегося в соединение синего цвета под названием формазан. Затем определяют функциональность митохондрий обработанных клеток. Этот способ интенсивно используют для измерения клеточной пролиферации и степени выживаемости. Оставшиеся живые клетки пропорциональны количеству продуцируемого формазана.

В кратком изложении, способ являлся следующим:

- 30000 клеток MM1S на лунку высевали на 96-луночные планшеты для микротитрования.

- Получали разведения EDO-S101 и PI в DMSO и дексаметазона в этаноле и добавляли в лунки до конечных концентраций, указанных в эксперименте.

- Планшеты инкубировали в течение 24-48-72 часов в инкубаторе при 37°C во влажной атмосфере в присутствии 5% CO₂/95% воздуха.

- После инкубации добавляли 10 мкл раствора МТТ в каждую лунку и инкубировали в течение 2 часов, чтобы сделать возможным образование кристаллов формазана.

- Добавляли 100 мкл раствора смеси с SDS и HCl (10 мкл HCl на каждые 12 мл SDS) для растворения кристаллов формазана.

- Считывали поглощение при 570 нм OD и использовали референсную длину волны 650 нм.

- Жизнеспособность клеток (процентную долю) получали следующим образом: % жизнеспособности = OD обработанных клеток × 100 / OD контрольных клеток.

- Каждую дозу тестировали в четырех повторениях и каждый эксперимент осуществляли, по меньшей мере, дважды.

Концентрации в случае различных лекарственных средств имели постоянное соотношение для всех экспериментов. EDO-S101 в концентрации 500 нМ, 1 мкМ, 2,5 мкМ; дексаметазон в концентрации 2,5 нМ; 5 нМ; 10 нМ; и бортезомиб в концентрации 0,75 нМ, 1,5 нМ, 3 нМ.

Результаты представлены ниже в таблице 1 и на фигуре 1.

Таблица 1

48 ч.

CI для экспериментальных значений				
Дексаметазон, 48 ч. (нМ)		EDO, 48 ч. (нМ)	Fa	CI
2,5		500	0,43453	0,851
5		1000	0,56838	0,761
10		2000	0,683802	0,765
CI для экспериментальных значений				
Бортезомиб, 48 ч. (нМ)		EDO, 48 ч. (нМ)	Fa	CI
0,75		500	0,247333	1,087
1,5		1000	0,452958	1,230
3		2000	0,918526	0,627
CI для экспериментальных значений		DOBLE		
Дексаметазон, 48 ч. (нМ)		Бортезомиб, 48 ч. (нМ)	Fa	CI
2,5		0,75	0,419131	1,105
5		1,5	0,620757	0,879
10		3	0,935984	0,494
CI для экспериментальных значений				
Дексаметазон, 48 ч. (нМ)	Бортезомиб, 48 ч. (нМ)	EDO, 48 ч. (нМ)	Fa	CI
2,5	0,75	150	0,455868	0,958
5	1,5	300	0,673133	0,789
10	3	600	0,962173	0,404

Активность комбинации количественно анализировали с использованием программного обеспечения Calcsyn (biosoft, Ferguson, MO, USA), основанного на способе Chou Talay (Chou et al., *Adv. Enzyme Regul.*, 22, 27-55 (1984)), с помощью которого вычисляют индекс комбинации (CI) со следующей интерпретацией:

CI >1: антагонистический эффект, CI=1: аддитивный эффект и CI<1: синергическое действие.

На фигуре 1 можно видеть и из изложенного выше следует, что EDO-S101 демонстрирует синергию с бортезомибом, а также синергию в тройной комбинации с бортезомибом и дексаметазоном.

В дополнительном варианте ту же постоянную дозу этих лекарственных средств инкубировали в течение 72 часов вместо 48

часов. Результаты представлены в таблице 2 ниже и фигура 2

Таблица 2

72 ч.

СИ для экспериментальных значений				
Дексаметазон (нМ)		EDO (нМ)	Fa	CI
2,5		500	0,576413	0,682
5		1000	0,69365	0,836
10		2000	0,828332	0,829
СИ для экспериментальных значений				
Бортезомиб (нМ)		EDO (нМ)	Fa	CI
0,75		500	0,310537	1,336
1,5		1000	0,780181	1,166
3		2000	0,999302	0,489
СИ для экспериментальных значений		DOBLE		
Дексаметазон (нМ)		Бортезомиб (нМ)	Fa	CI
2,5		0,75	0,411026	1,441
5		1,5	0,865318	0,876
10		3	1	0,017
СИ для экспериментальных значений				
Дексаметазон	Бортезомиб (нМ)	EDO (нМ)	Fa	CI
2,5	0,75	500	0,607118	1,115
5	1,5	1000	0,923936	0,845
10	3	2000	1	0,017

И снова, на фигуре 2 и из представленных выше результатов в таблице 2 можно видеть, что EDO-S101 демонстрирует синергию с бортезомибом, а также синергию в тройной комбинации с бортезомибом и дексаметазоном.

Пример 2. Комбинации EDO-S101 *in vivo* против ксенотрансплантата подкожной плазмоцитомы

Мышей CB17-SCID (полученных из The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) подкожно инокулировали в правый бок с использованием 3×10^6 клеток множественной миеломы MM1S, любезно предоставленных Steven Rosen из Northwestern University, Chicago, IL, USA, в 100 мкл среды RPMI 1640 и 100 мкл Matrigel (BD Biosciences). Когда опухоли становились пальпируемыми, мышей случайным образом распределяли по 8 исследуемым группам с 5 мышами в каждой.

Группы являлись следующими:

- Контроль (группа, которой вводили только наполнитель)
- 1 мг/кг бортезомиба дважды в неделю интраперитонеально в течение трех недель
- 0,5 мг дексаметазона дважды в неделю внутривенно в течение трех недель
- EDO-S101 внутривенно в дозах 30 мг/кг один раз в неделю в течение 3 доз,
- Бортезомиб и дексаметазон
- Бортезомиб и EDO-S101
- EDO-S101 и дексаметазон
- Тройная комбинация EDO-S101 с бортезомибом и дексаметазоном

Кавернометрию диаметров опухолей осуществляли каждый день и оценивали объем опухоли, как объем эллипса по следующей формуле: $V = 4/3 \pi \times (a/2) \times (b/2)^2$, где "a" и "b" соответствуют наибольшему и наименьшему диаметру, соответственно.

Результаты оценки роста опухоли представлены на фигуре 3 на графике роста опухоли (мм³) относительно количества дней исследования. Можно видеть, что комбинация EDO-S101 и бортезомиба приводит к более низким объемам опухолей, чем наблюдаемые при использовании любого средства в отдельности, в то время как тройная комбинация EDO-S101, бортезомиба и дексаметазона демонстрирует гораздо более низкие объемы опухолей к концу исследования, чем любое из активных средств в отдельности.

Пример 3. Комбинации EDO-S101 *in vitro* - линия клеток множественной миеломы RPMI 8226

Используя тот же способ тестирования, как описано в примере 1, но с использованием линии клеток множественной миеломы RPMI 8226 (полученной из DMSZ) вместо линии клеток MM1S, комбинации EDO-S101 с бортезомибом, карфилзомибом и LU-102 тестировали на активность. Концентрации различных лекарственных средств имели постоянное соотношение для всех экспериментов. EDO-S101 в концентрации 0, 2, 4, 8 мкМ; каждый из бортезомиба и карфилзомиба в концентрации 0, 5, 10, 20 нМ; и

LU-102 в концентрации 0, 1, 3,3, 10 мкМ. Также получали контроли с использованием бендамустина.

Измеряли жизнеспособность клеток в виде процентной доли необработанного контроля, и результаты представлены на фигуре 4. На фигуре показана четкая синергия для каждой из трех комбинаций с EDO-S101 *in vitro* в отношении клеток множественной миеломы RPMI 8226. CI при 4 мкМ EDO-S101 и 20 нМ карфилзомиба составлял 0,019, и CI при 4 мкМ EDO-S101 и 3 мкМ LU-102 составлял 0,109.

Пример 4. Комбинации EDO-S101 *in vitro* - линия клеток множественной миеломы 2013-10-16 MTS AMO abzb

Используя тот же способ тестирования, как описано в примере 1, но с использованием бортезомиб-устойчивой линии клеток множественной миеломы 2013-10-16 MTS AMO abzb (полученной в Department of Oncology and Hematology of the Kantonsspital St. Gallen by Prof. Dr. med. C. Driessen) вместо линии клеток MM1S, комбинации EDO-S101 с бортезомибом, карфилзомибом и LU-102 тестировали на активность. Концентрации различных лекарственных средств имели постоянное соотношение и составляли 0, 2, 4, 8 мкМ для EDO-S101; 0, 1,25, 2,5, 5, 10, 20 нМ для каждого из бортезомиба и карфилзомиба; и 0, 1, 3,3, 10 для LU-102.

Измеряли жизнеспособность клеток в виде процентной доли необработанного контроля, и результаты представлены на фигуре 5. На фигуре показана четкая синергия для комбинаций карфилзомиба и LU-102 с EDO-S101 *in vitro* в отношении бортезомиб-устойчивых клеток множественной миеломы 2013-10-16 MTS AMO abzb. CI для комбинаций EDO-S101 и карфилзомиба в отношении этой линии клеток составлял 0,11 и для EDO-S101 и LU-102 составлял 0,25.

Пример 5. Комбинации EDO-S101 *in vitro* - линия лимфомных клеток мантийной зоны 2014-01-15 MTS Jeko

Используя тот же способ тестирования, как описано в примере 1, но с использованием линии лимфомных клеток мантийной зоны 2014-01-15 MTS Jeko (полученных из LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex,

France) вместо линии клеток MM1S, комбинации EDO-S101 с бортезомибом, карфилзомибом и LU-102 тестировали на активность. Концентрации различных лекарственных средств имели постоянное соотношение для всех экспериментов и являлись теми же, что и в примере 3.

Измеряли жизнеспособность клеток в виде процентной доли необработанного контроля, и результаты представлены на фигуре 6. На фигуре показана четкая синергия для каждой из трех комбинаций с EDO-S101 *in vitro* в отношении линии лимфомных клеток мантийной зоны 2014-01-15 MTS Jeko. CI при 2 мкМ EDO-S101 и 20 нМ бортезомиба составлял 0,292; CI при 2 мкМ EDO-S101 и 20 нМ карфилзомиба составлял 0,206; и CI при 2 мкМ EDO-S101 и 10 мкМ LU-102 составлял 0,204.

Пример 6. Комбинации EDO-S101 *in vitro* - линия лимфомных клеток мантийной зоны 2014-01-15 MTS Granta

Используя тот же способ тестирования, как описано в примере 1, но с использованием линии лимфомных клеток мантийной зоны 2014-01-15 MTS Granta (полученной из LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, France) вместо линии клеток MM1S, комбинации EDO-S101 с бортезомибом, карфилзомибом и LU-102 тестировали на активность. Концентрации различных лекарственных средств имели постоянное соотношение для всех экспериментов и являлись теми же, что и в примере 3.

Измеряли жизнеспособность клеток в виде процентной доли необработанного контроля, и результаты представлены на фигуре 7. На фигуре показана четкая синергия для каждой из трех комбинаций с EDO-S101 *in vitro* в отношении линии лимфомных клеток мантийной зоны 2014-01-15 MTS Granta. CI при 0,5 мкМ EDO-S101 и 8 нМ бортезомиба составлял 0,025; CI при 0,5 мкМ EDO-S101 и 8 нМ карфилзомиба составлял 0,089; и CI при 1 мкМ EDO-S101 и 3 мкМ LU-102 составлял 0,078.

Пример 7. Комбинации EDO-S101 *in vitro* - Линия клеток базального рака молочной железы MTS MDA-MB468

Используя тот же способ тестирования, как описано в примере 1, но с использованием линии клеток базального рака

молочной железы MTS MDA-MB468 (полученной из LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, France) вместо линии клеток MM1S, комбинации EDO-S101 с бортезомибом, карфилзомибом и LU-102 тестировали на активность. Концентрации различных лекарственных средств имели постоянное соотношение для всех экспериментов и составляли 0, 2, 4, 8 и 16 мкМ для EDO-S101; 0, 8, 16 и 32 нМ для каждого из бортезомиба и карфилзомиба; и 0, 1, 3,3 и 10 мкМ для LU-102.

Измеряли жизнеспособность клеток в виде процентной доли необработанного контроля, и результаты представлены на фигуре 8. На фигуре показана четкая синергия для каждой из трех комбинаций с EDO-S101 *in vitro* в отношении линии клеток трижды негативного рака молочной железы MTS MDA-MB468.

Пример 8. Комбинации EDO-S101 *in vitro* - Линия клеток промиелоцитарного лейкоза HL-60

Используя тот же способ тестирования, как описано в примере 1, но с использованием линии клеток промиелоцитарного лейкоза HL-60 (полученной из LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, France) вместо линии клеток MM1S, комбинации EDO-S101 с бортезомибом, карфилзомибом и LU-102 тестировали на активность. Концентрации различных лекарственных средств имели постоянное соотношение для всех экспериментов и составляли 0, 1, 2 и 4 мкМ для EDO-S101; 0, 5, 10, 20 нМ для бортезомиба и карфилзомиба; и LU-102 для 0, 1, 3,3, 10 мкМ.

Измеряли жизнеспособность клеток в виде процентной доли необработанного контроля, и результаты представлены на фигуре 9. На фигуре показана четкая синергия для каждой из трех комбинаций с EDO-S101 *in vitro* в отношении линии клеток промиелоцитарного лейкоза HL-60. CI при 1 мкМ EDO-S101 и 20 нМ бортезомиба составлял 0,051; CI при 1 мкМ EDO-S101 и 20 нМ карфилзомиба составлял 0,073; и CI при 1 мкМ EDO-S101 и 3 мкМ LU-102 составлял 0,387.

Пример 9. Комбинации EDO-S101 *in vitro* - Линия клеток острого миелолейкоза U937

Используя тот же способ тестирования, как описано в

примере 1, но с использованием линии клеток острого миелолейкоза U937 (полученной из LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, France) вместо линии клеток MM1S, комбинации EDO-S101 с бортезомибом, карфилзомибом и LU-102 тестировали на активность. Концентрации различных лекарственных средств имели постоянное соотношение для всех экспериментов и являлись теми же, что и в примере 8.

Измеряли жизнеспособность клеток в виде процентной доли необработанного контроля, и результаты представлены на фигуре 10. На фигуре показана четкая синергия для каждой из трех комбинаций с EDO-S101 *in vitro* в отношении линии клеток острого миелолейкоза U937. CI при 2 мкМ EDO-S101 и 10 нМ бортезомиба составлял 0,285; CI при 2 мкМ EDO-S101 и 10 нМ карфилзомиба составлял 0,272; и CI при 2 мкМ EDO-S101 и 3 мкМ LU-102 составлял 0,095.

Пример 10. Комбинации EDO-S101 *in vitro* - Линия клеток В-клеточной лимфомы VJAB

Используя тот же способ тестирования, как описано в примере 1, но с использованием линии клеток В-клеточной лимфомы VJAB (линии клеток зародышевого центра) (полученной из LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, France) вместо линии клеток MM1S, комбинации EDO-S101 с бортезомибом, карфилзомибом и LU-102 тестировали на активность. Концентрации различных лекарственных средств имели постоянное соотношение для всех экспериментов и являлись теми же, что и в примере 8.

Измеряли жизнеспособность клеток в виде процентной доли необработанного контроля, и результаты представлены на фигуре 11. На фигуре показана сильная синергия для комбинации EDO-S101 и карфилзомиба, в частности, *in vitro* в отношении линии клеток В-клеточной лимфомы VJAB (линия клеток зародышевого центра), в то время как комбинация EDO-S101 и бортезомиба также демонстрировала синергию. CI для комбинации EDO-S101 и карфилзомиба составлял 0,09, в то время как CI для комбинации EDO-S101 и бортезомиба составлял 0,62.

Пример 11. Комбинации EDO-S101 *in vitro* - линия клеток В-

клеточной лимфомы OciLy3

Используя тот же способ тестирования, как описано в примере 1, но с использованием линии клеток В-клеточной лимфомы OciLy3 (типа ABC) (полученной из LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, France) вместо линии клеток MM1S, комбинации EDO-S101 с бортезомибом, карфилзомибом и LU-102 тестировали на активность. Концентрации различных лекарственных средств имели постоянное соотношение для всех экспериментов и составляли 0, 0,5, 1 и 2 мкМ для EDO-S101, 0, 5, 10 и 20 нМ для бортезомиба и карфилзомиба и 0, 1, 3,3 и 10 мкМ для LU-102.

Измеряли жизнеспособность клеток в виде процентной доли необработанного контроля, и результаты представлены на фигуре 12. На фигуре показана сильная синергия для комбинации EDO-S101 и бортезомиба, в частности, *in vitro* в отношении линии клеток В-клеточной лимфомы OciLy3 (типа ABC), в то время как комбинация EDO-S101 и карфилзомиба также демонстрировала синергию. CI для комбинации EDO-S101 и карфилзомиба составлял 0,59, в то время как CI для комбинации EDO-S101 и бортезомиба составлял 0,21.

Пример 12. Комбинации EDO-S101 *in vitro* - линия клеток В-клеточной лимфомы TMD8

Используя тот же способ тестирования, как описано в примере 1, но с использованием линии клеток В-клеточной лимфомы TMD8 (типа ABC) (полученной из LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, France) вместо линии клеток MM1S, комбинации EDO-S101 с бортезомибом, карфилзомибом и LU-102 тестировали на активность. Концентрации различных лекарственных средств имели постоянное соотношение для всех экспериментов и являлись теми же, что и в примере 11.

Измеряли жизнеспособность клеток в виде процентной доли необработанного контроля, и результаты представлены на фигуре 13. На фигуре показана сильная синергия для всех тестируемых комбинаций EDO-S101 и ингибитора протеасом. CI для комбинации EDO-S101 и карфилзомиба составлял 0,17, CI для комбинации EDO-S101 и бортезомиб составлял 0,14, и CI для комбинации EDO-S101

и LU-102 составлял 0,63.

Пример 13. Комбинации EDO-S101 *in vitro* - линия клеток трижды негативного рака молочной железы BT-549

Используя тот же способ тестирования, как описано в примере 1, но с использованием линии клеток трижды негативного рака молочной железы BT-549 (полученной из LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, France) вместо линии клеток MM1S, комбинации EDO-S101 с бортезомибом, карфилзомибром и LU-102 тестировали на активность. Концентрации различных лекарственных средств имели постоянное соотношение для всех экспериментов и составляли 0, 1, 2 и 4 мкМ для EDO-S101; 0, 5, 10 и 20 нМ для каждого из бортезомиба и карфилзомиба; и 0, 1, 3,3 и 10 мкМ для LU-102.

Измеряли жизнеспособность клеток в виде процентной доли необработанного контроля, и результаты представлены на фигуре 14. На фигуре показана четкая синергия для каждой из трех комбинаций с EDO-S101 *in vitro* в отношении линии клеток трижды негативного рака молочной железы BT-549. CI для комбинации EDO-S101 и бортезомиба составлял 0,14, CI для комбинации EDO-S101 и карфилзомиба составлял 0,05, и CI для комбинации EDO-S101 и LU-102 составлял 0,38.

Пример 14. Комбинации лучевой терапии и EDO-S101 в отношении линии клеток глиобластомы *in vitro*

В случае линии клеток глиобластомы U251MG для EDO-S101 измеряли IC₅₀, равную 6,60 мкМ (по сравнению с 30 мкМ для бендамустина и 20 для темозоломида).

В случае линии клеток глиобластомы U87G для EDO-S101 измеряли IC₅₀, равную 1,36 мкМ (по сравнению с 50 мкМ для бендамустина и 20 для темозоломида).

В случае линии клеток глиобластомы T98G для EDO-S101 измеряли IC₅₀, равную 7,70 мкМ (по сравнению с 52 мкМ для бендамустина и >100 для темозоломида).

Как видно на фигуре 15, % выживаемости для клеток глиобластомы был значительно снижен при использовании лучевой терапии в комбинации с дозой EDO-S101 (5 мкМ или 10 мкМ) по сравнению с лучевой терапией в отдельности.

Пример 15. Комбинации лучевой терапии и EDO-S101 в отношении Линии клеток глиобластомы *in vivo*

U87MG, U251MG и T98G

Подкожно инокулируемые ксенотрансплантаты

Лечение и дозы

- Наполнитель (контроль)
- Лучевая терапия (2 Гр/5 последовательных дней)
- Темозоломид (16 мг/кг в течение 5 последовательных дней, po)
- Темозоломид+лучевая терапия
- EDO-S101 (60 мг/кг в день 1, 8 и 15 каждые 28 дней, iv)
- EDO-S101+лучевая терапия

Обнаруживали, что время до прогрессирования опухолей повышалось с приблизительно 17-18 дней в случае контроля для модели ксенотрансплантата U251MG мыши до 42 дней при использовании комбинации лучевой терапии и темозоломида, до более 50 дней в случае EDO-S101 в отдельности (значимость $P=0,924$), до значимо более 50 дней для комбинации EDO-S101 и лучевой терапии (значимость $P=0,0359$).

Обнаруживали, что время до прогрессирования опухолей повышалось с приблизительно 15 дней в случае контроля для модели ксенотрансплантата мыши U87MG до 35 дней при использовании комбинации лучевой терапии и темозоломида, до 40 дней в случае EDO-S101 в отдельности (значимость $P=2372$), до значимо более 50 дней для комбинации EDO-S101 и лучевой терапии (значимость $P=0,0001$).

Пример 16. Активность EDO-S101 в отношении моделей рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломы

Генетическая реаранжировка локуса MYC, приводящая к нерегулируемой экспрессии MYC, является наиболее распространенной мутацией при множественной миеломе человека. Генетически сконструированная модель мыши Vk*MYC основана на дисрегуляции MYC и в значительной степени подтверждена в качестве клинически и биологически достоверной модели неподвергнутой лечению множественной миеломы. Сообщается о девяти лекарственных средствах или классах лекарственных

средств (ДНК-алкилирующих средств, глюкокортикоидов, ингибиторов протеасом, IMiD, наб-паклитаксела, ингибиторов гистондеацетилаз, TACI-Ig, перифосина и SNS-032, ингибитора CDK2.7.9) с долей пациентов с частичным ответом более 20% в Vk*MYC MM. Среди них первые пять также имеют более 20% PR у пациентов с множественной миеломой для положительной прогностической значимости 56%.

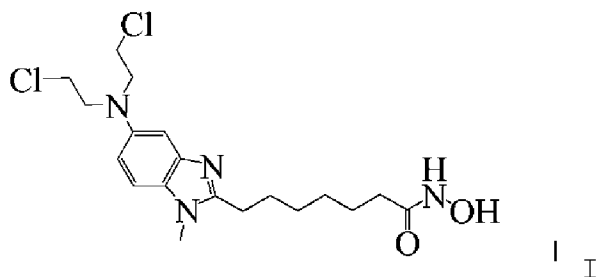
EDO-S101 индуцировал высокую степень ответа при множественной миеломе Vk*MYC, поддерживаемую в течение более чем трех месяцев у мышей, которым вводили лишь две дозы с разницей в одну неделю. Примечательно, что EDO-S101 является единственным лекарственным средством, которое идентифицировали как имеющее монотерапевтическую активность в модели трансплантата Vk12653 очень агрессивной рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломы с множественной лекарственной устойчивостью.

В заключение, можно видеть, что соединение формулы I (EDO-S101) демонстрирует исключительную активность в комбинации с ингибиторами протеасом *in vitro* и *in vivo* в отношении широкого спектра линий клеток миеломы, лимфомы, лейкоза и рака молочной железы. Кроме того, можно видеть, что активность многих из этих комбинаций неожиданно является синергической и, во многих случаях, до очень значительной степени. Кроме того, как можно видеть в примерах 1 и 2, тройные комбинации, содержащие соединение формулы I, ингибитор протеасом и глюкокортикоид, такой как дексаметазон, демонстрировали особенно сильную синергию.

В результате ожидают, что комбинации соединения формулы I по настоящему изобретению с ингибитором протеасом, необязательно, содержащие глюкокортикоид, будут пригодны в лечении злокачественного новообразования, в частности, гемобластозов и рака молочной железы.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Комбинация, содержащая ингибитор протеасом и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль:



2. Комбинация по п. 1, где фармацевтически приемлемой солью соединения формулы I является гидрохлорид, гидробромид, гидроиодид, сульфат, бисульфаты, сульфамат, нитрат, фосфат, цитрат, метансульфонат, трифторацетат, глутамат, глюкуронат, глутарат, малат, малеат, сукцинат, фумарат, тартрат, тозилат, салицилат, лактат, нафталинсульфонат или ацетат.

3. Комбинация по п. 1 или 2, где ингибитор протеасом выбран из группы, состоящей из бортезомиба, карфилзомиба, маризомиба, деланзомиба (CER-18770), опрозомеба (ONX 0912), иксазомиба (MLN-9708) и LU-102 или его фармацевтически приемлемой соли.

4. Комбинация по п. 1 или 2, где ингибитор протеасом выбран из бортезомиба, карфилзомиба и LU-102.

5. Комбинация по любому из пп. 1-4, дополнительно содержащая глюкокортикоид.

6. Комбинация по п. 5, где глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из дексаметазона, флуоцинолона ацетонида и преднизона.

7. Комбинация по п. 5, где глюкокортикоидом является дексаметазон.

8. Комбинация по любому из пп. 1-7, дополнительно содержащая одно или несколько дополнительных фармацевтически активных средств.

9. Комбинация по любому из пп. 1-8, где ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, при наличии, глюкокортикоид адаптируют для одновременного, последовательного или раздельного введения.

10. Комбинация по п. 9, где ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, при наличии, глюкокортикоид адаптируют для одновременного введения.

11. Комбинация по любому из пп. 1-10, где молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в указанной комбинации составляет от 1:1000 до 1000:1.

12. Комбинация по п. 11, где молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в указанной комбинации составляет от 1:1000 до 10:1.

13. Комбинация по п. 11, где молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в указанной комбинации составляет от 1:800 до 1:200.

14. Комбинация по п. 11, где молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в указанной комбинации составляет от 1:700 до 1:400.

15. Комбинация по п. 11, где молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в указанной комбинации составляет от 1:3 до 1:0,5.

16. Комбинация по любому из пп. 1-15, содержащая соединение формулы I или его ацетатную соль и ингибитор протеасом, выбранный из бортезомиба и карфилзомиба, где молярное отношение ингибитора протеасом, выбранного из бортезомиба и карфилзомиба, к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в указанной комбинации составляет от 1:700 до 1:400.

17. Комбинация по любому из пп. 1-15, содержащая соединение формулы I или его ацетатную соль и ингибитор протеасом, выбранный из LU-102, где молярное отношение LU-102 к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в указанной комбинации составляет от 1:3 до 1:0,5.

18. Комбинация по любому из пп. 1-17, содержащая ингибитор протеасом и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль, где ингибитор протеасом и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль являются синергической комбинацией.

19. Комбинация по любому из пп. 1-14, дополнительно содержащая глюкокортикоид, где молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли к глюкокортикоиду в указанной комбинации составляет от 1:1000:10 до 1000:1:20.

20. Комбинация по п. 17, где молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли к глюкокортикоиду, используемому в указанной комбинации, составляет от 1:1000:10 до 1:100:2.

21. Комбинация по п. 17, где молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли к глюкокортикоиду, используемому в указанной комбинации, составляет от 1:700:4 до 1:400:3.

22. Комбинация по п. 17, содержащая ингибитор протеасом, выбранный из бортезомиба и карфилзомиба, соединение формулы I или его ацетатную соль и дексаметазон, где молярное отношение ингибитора протеасом, выбранного из бортезомиба и карфилзомиба, к соединению формулы I или его ацетатной соли к дексаметазону в указанной комбинации составляет от 1:700:4 до 1:400:3.

23. Комбинация по п. 17, содержащая ингибитор протеасом, выбранный из LU-102, соединение формулы I или его ацетатную соль и дексаметазон, где молярное отношение LU-102 к соединению формулы I или его ацетатной соли к дексаметазону в указанной комбинации составляет от 1:3:4 до 1:0,5:3.

24. Комбинация по любому из пп. 19-23, содержащая ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и глюкокортикоид, где ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль и глюкокортикоид являются синергической комбинацией.

25. Фармацевтическая композиция, содержащая

фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель и комбинацию по любому из пп. 1-24.

26. Набор, содержащий комбинацию по любому из пп. 1-24 и, необязательно, инструкции по лечению пациента.

27. Комбинация по любому из пп. 1-24, композиция по п. 25 или набор по п. 26 для применения в лечении злокачественного новообразования.

28. Комбинация, композиция или набор для применения по п. 27, где указанное злокачественное новообразование выбрано из гемобластоза и рака молочной железы.

29. Комбинация, композиция или набор для применения по п. 28, где указанный гемобластоз выбран из множественной миеломы, лимфомы и лейкоза.

30. Комбинация, композиция или набор для применения по п. 29, где указанная множественная миелома выбрана из активной миеломы, плазмоцитомы, болезни легких цепей и несекреторной миеломы.

31. Комбинация, композиция или набор для применения по п. 29, где указанная лимфома выбрана из лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы.

32. Комбинация, композиция или набор для применения по п. 29, где указанный лейкоз выбран из острого лимфобластного лейкоза (ALL), хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), острого миелолейкоза (AML), хронического миелолейкоза (CML), волосатоклеточного лейкоза (HCL), Т-клеточного пролимфоцитарного лейкоза (T-PLL), лейкоза из больших зернистых лимфоцитов и Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза.

33. Комбинация, композиция или набор для применения по п. 28, где указанный рак молочной железы выбран из опухолей с низкой экспрессией клаудина, базальных опухолей, опухолей, положительных по рецептору эпидермального фактора роста 2 (HER2) человека, люминальных опухолей типа А и люминальных опухолей типа В.

34. Комбинация, композиция или набор для применения по п. 28, где указанный рак молочной железы является трижды негативным раком молочной железы.

35. Комбинация, композиция или набор для применения по любому из пп. 27-34, где в указанном лечении ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, при наличии, глюкокортикоид вводят одновременно, последовательно или раздельно.

36. Комбинация, композиция или набор для применения по п. 35, где в указанном лечении ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, при наличии, глюкокортикоид вводят одновременно.

37. Комбинация, композиция или набор для применения по любому из пп. 27-36, где в указанном лечении соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль вводят нуждающемуся в этом пациенту в диапазоне доз от 10 до 100 мг/кг массы тела пациента.

38. Комбинация, композиция или набор для применения по п. 37, где в указанном лечении соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль вводят нуждающемуся в этом пациенту в диапазоне доз от 40 до 80 мг/кг массы тела пациента.

39. Комбинация, композиция или набор для применения по любому из пп. 27-38, где в указанном лечении ингибитор протеасом вводят пациенту в диапазоне доз от 0,01 до 0,3 мг/кг массы тела пациента.

40. Комбинация, композиция или набор для применения по п. 39, где в указанном лечении ингибитор протеасом вводят пациенту в диапазоне доз от 0,05 до 0,15 мг/кг массы тела пациента.

41. Комбинация, композиция или набор для применения по любому из пп. 27-40, где глюкокортикоид, при наличии, вводят в диапазоне доз от 0,1 до 1 мг/кг массы тела пациента.

42. Комбинация, композиция или набор для применения по п. 41, где глюкокортикоид вводят в диапазоне доз от 0,3 до 0,5 мг/кг массы тела пациента.

43. Способ лечения злокачественного новообразования у нуждающегося в этом пациента, включающий введение указанному пациенту комбинации по любому из пп. 1-24, фармацевтической композиции по п. 25 или набора по п. 26.

44. Способ по п. 43, где указанное злокачественное

новообразование выбрано из гемобластоза и рака молочной железы.

45. Способ по п. 44, где указанный гемобластоз выбран из множественной миеломы, лимфомы и лейкоза.

46. Способ по п. 45, где указанная множественная миелома выбрана из активной миеломы, плазмоцитомы, болезни легких цепей и несекреторной миеломы.

47. Способ по п. 45, где указанная лимфома выбрана из лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы.

48. Способ по п. 45, где указанный лейкоз выбран из острого лимфобластного лейкоза (ALL), хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), острого миелолейкоза (AML), хронического миелолейкоза (CML), волосатоклеточного лейкоза (HCL), Т-клеточного пролимфоцитарного лейкоза (Т-PLL), лейкоза из больших зернистых лимфоцитов и Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза.

49. Способ по п. 44, где указанный рак молочной железы выбран из опухолей с низкой экспрессией клаудина, базальных опухолей, опухолей, положительных по рецептору эпидермального фактора роста 2 (HER2) человека, люминальных опухолей типа А и люминальных опухолей типа В.

50. Способ по п. 44, где указанный рак молочной железы является трижды негативным раком молочной железы.

51. Способ по любому из пп. 43-50, где в указанном способе ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, при наличии, глюкокортикоид вводят одновременно, последовательно или отдельно.

52. Способ по п. 51, где в указанном способе ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, при наличии, глюкокортикоид вводят одновременно.

53. Способ по любому из пп. 43-52, где соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль вводят нуждающемуся в этом пациенту в диапазоне доз от 10 до 100 мг/кг массы тела пациента.

54. Способ по п. 53, где соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль вводят нуждающемуся в этом

пациенту в диапазоне доз от 40 до 80 мг/кг массы тела пациента.

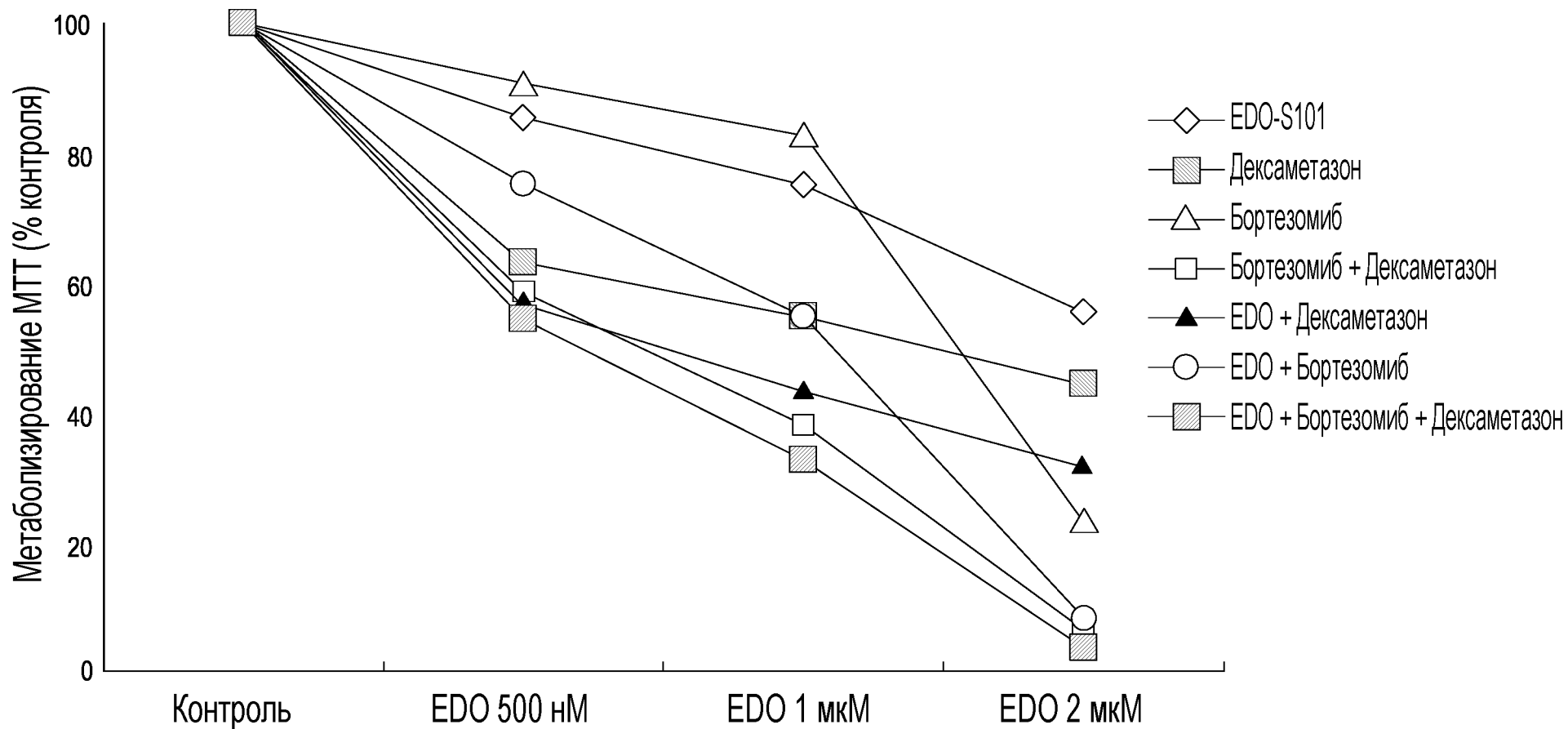
55. Способ по любому из пп. 43-54, где ингибитор протеасом вводят пациенту в диапазоне доз от 0,01 до 0,3 мг/кг массы тела пациента.

56. Способ по п. 55, где ингибитор протеасом вводят пациенту в диапазоне доз от 0,05 до 0,15 мг/кг массы тела пациента.

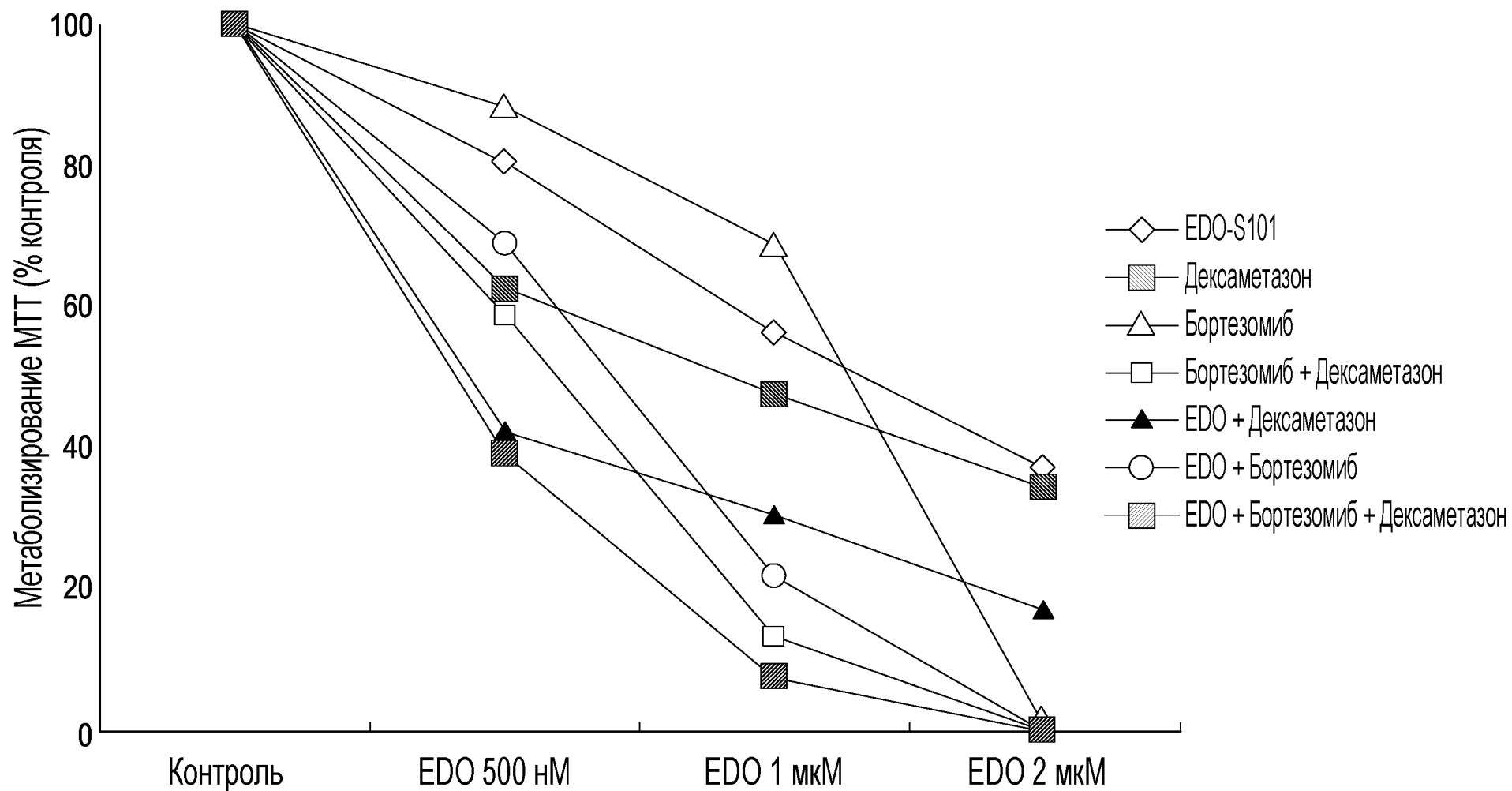
57. Способ по любому из пп. 43-56, где глюкокортикоид, при наличии, вводят в диапазоне доз от 0,1 до 1,0 мг/кг массы тела пациента.

58. Способ по п. 57, где глюкокортикоид вводят в диапазоне доз от 0,3 до 0,5 мг/кг массы тела пациента.

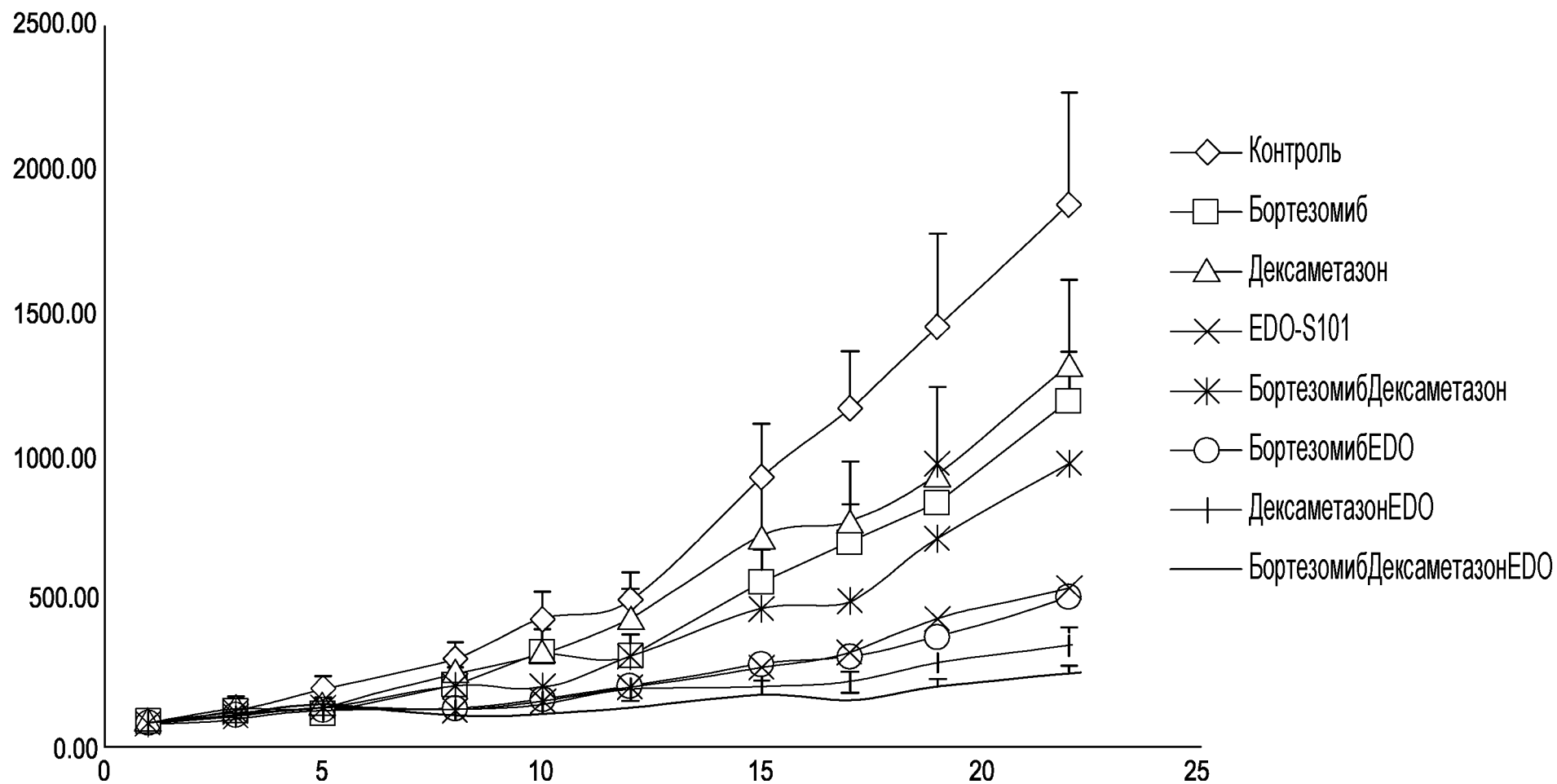
По доверенности



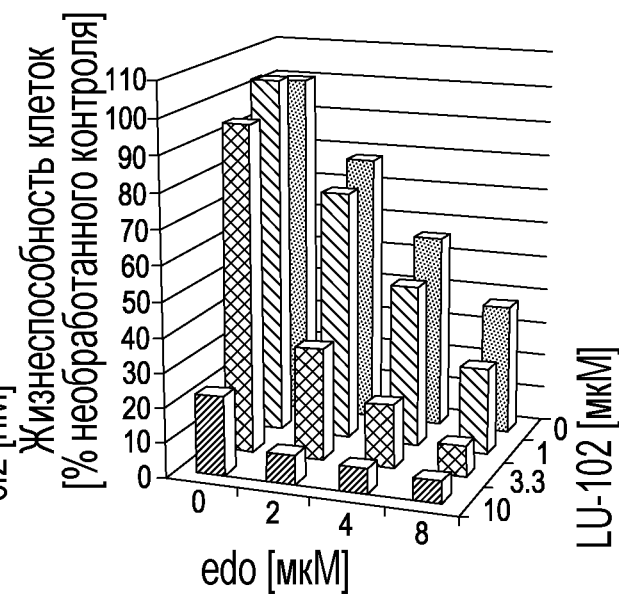
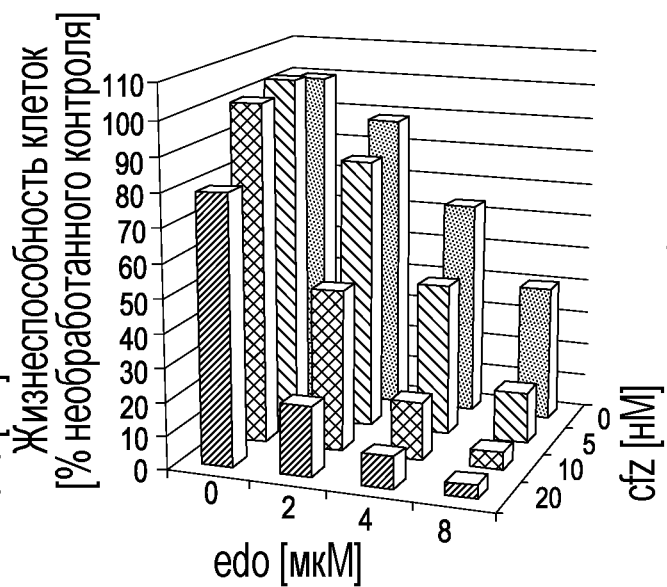
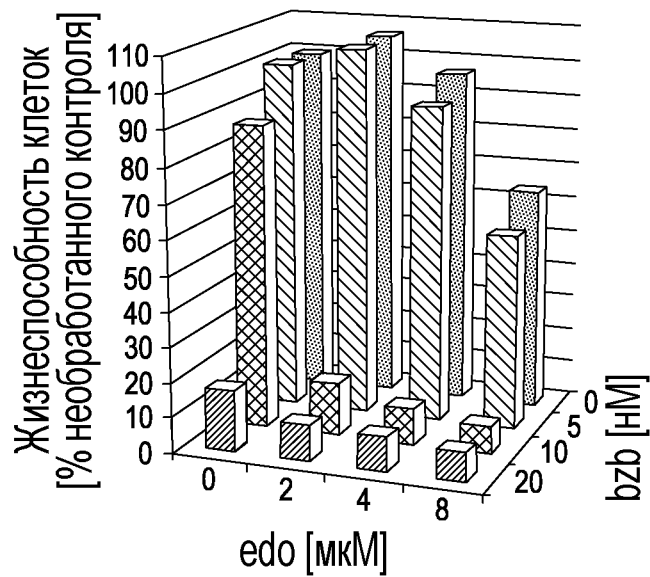
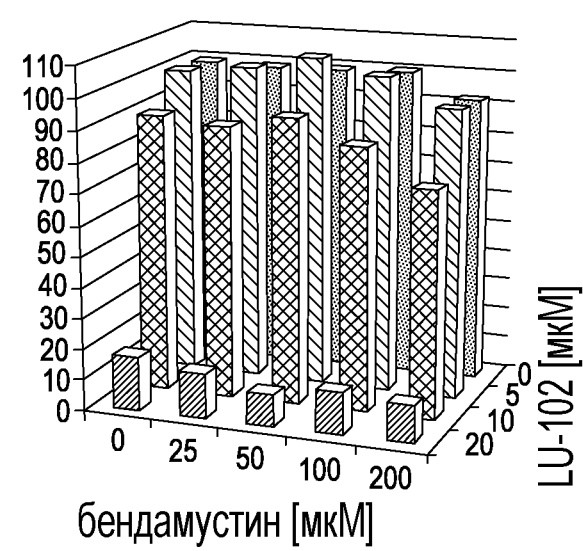
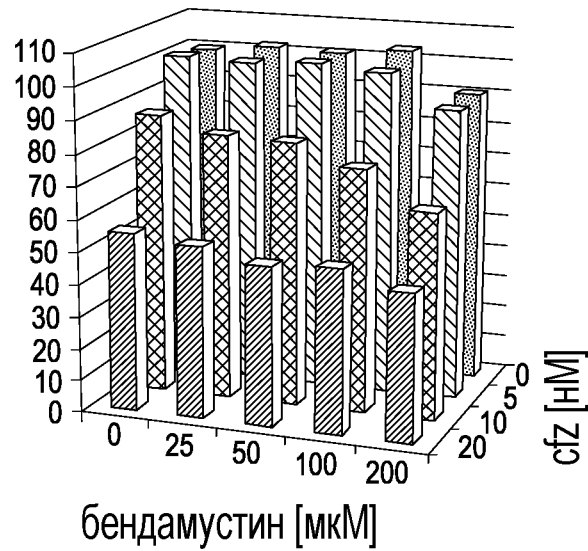
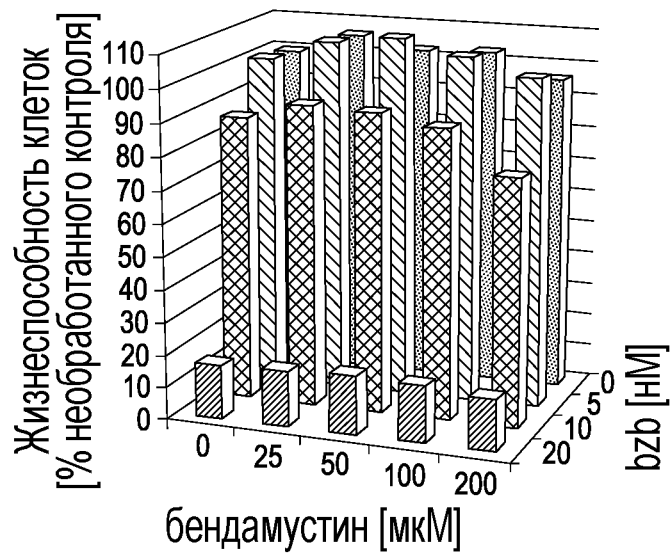
ФИГ. 1



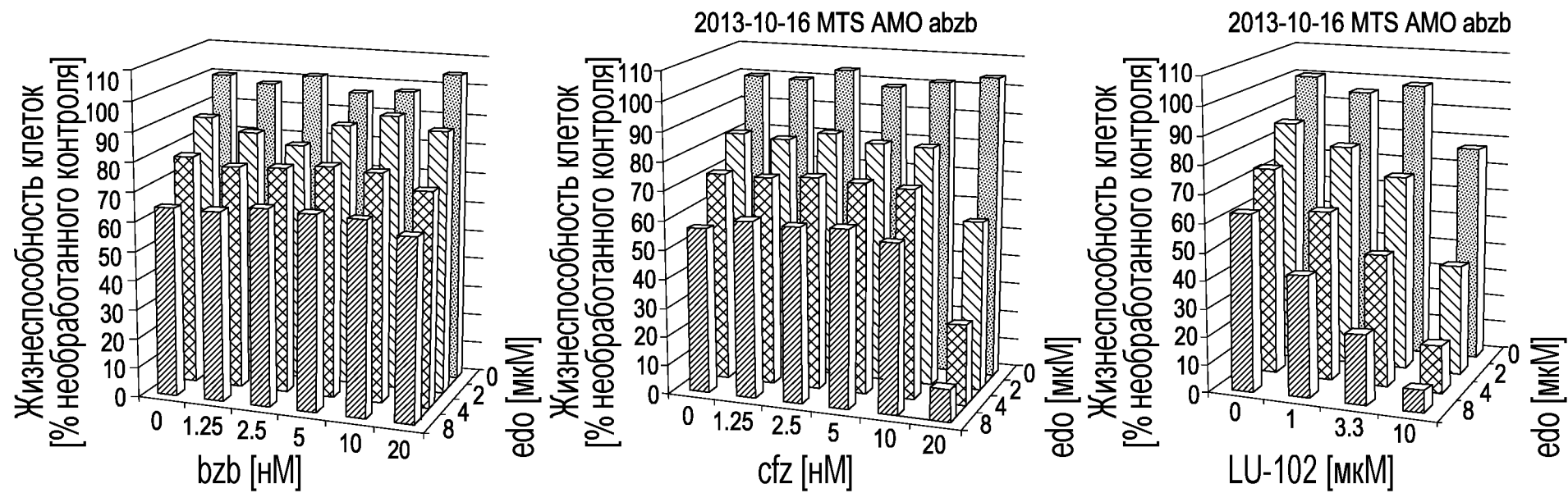
ФИГ. 2



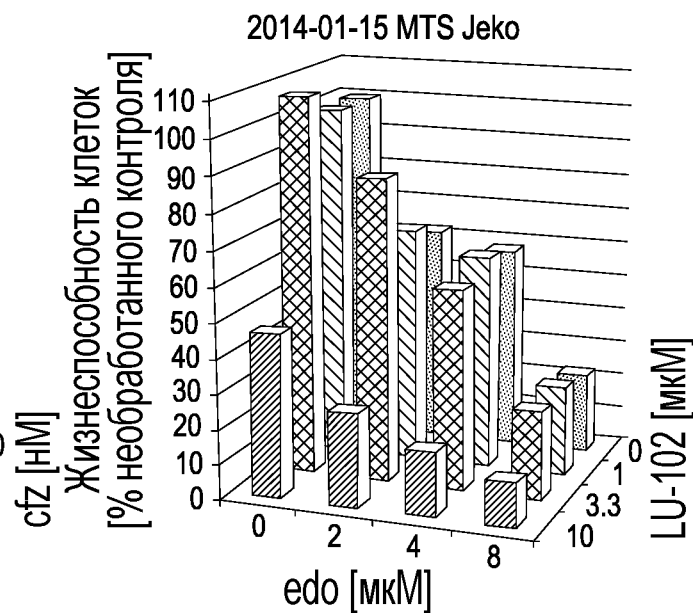
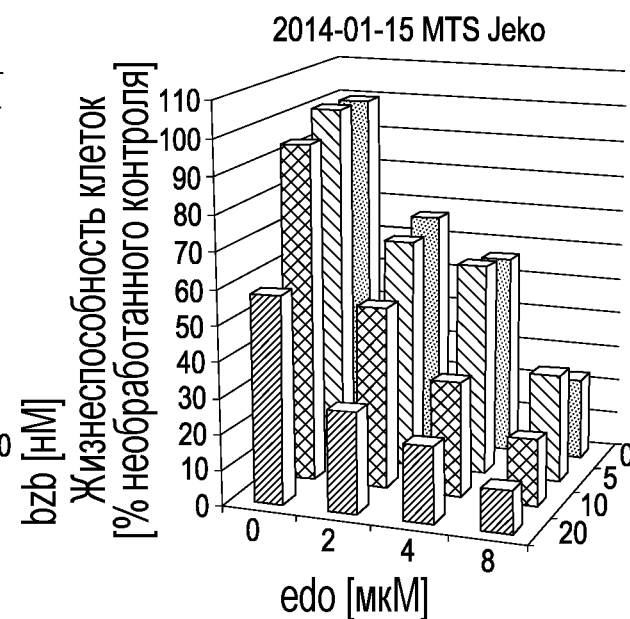
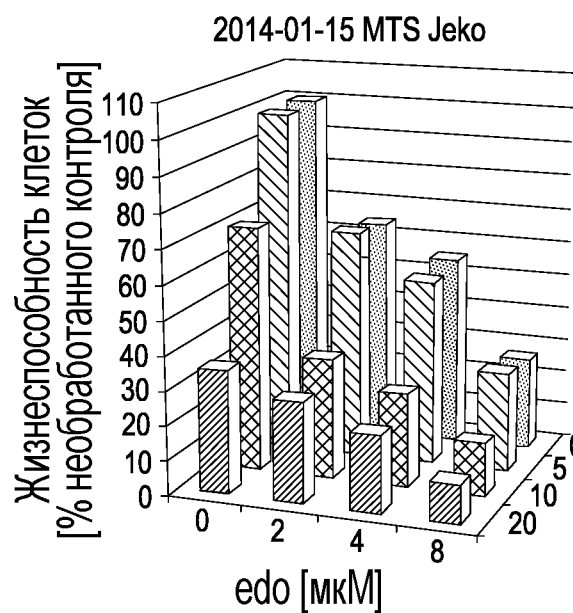
ФИГ. 3



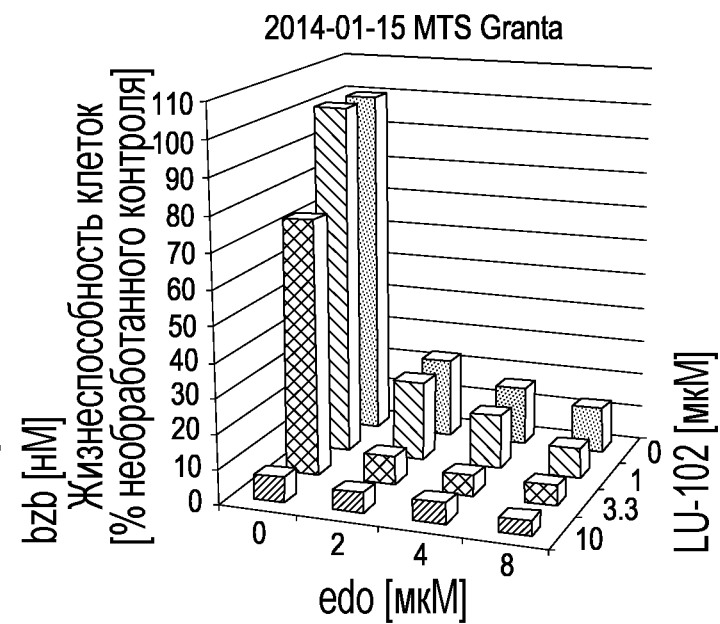
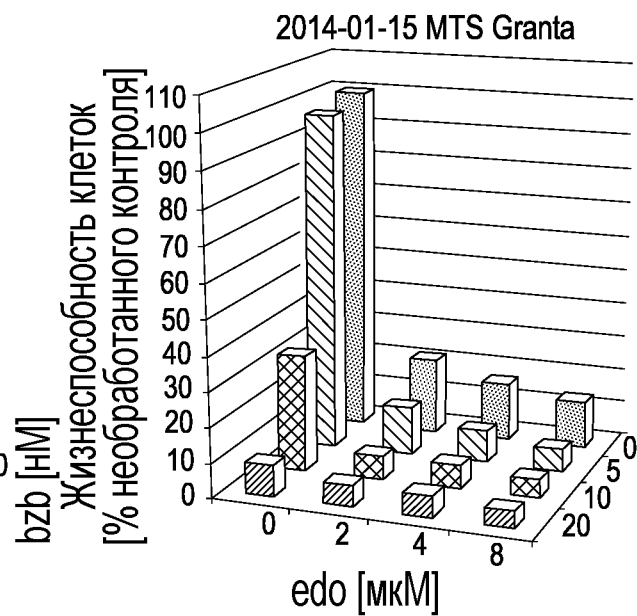
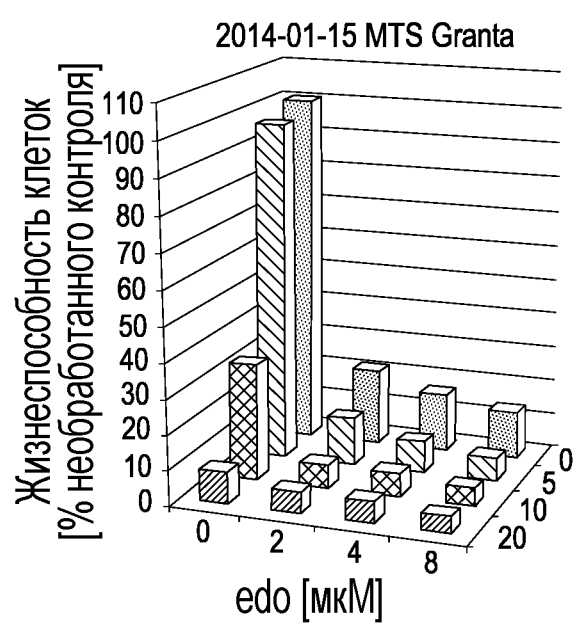
ФИГ. 4



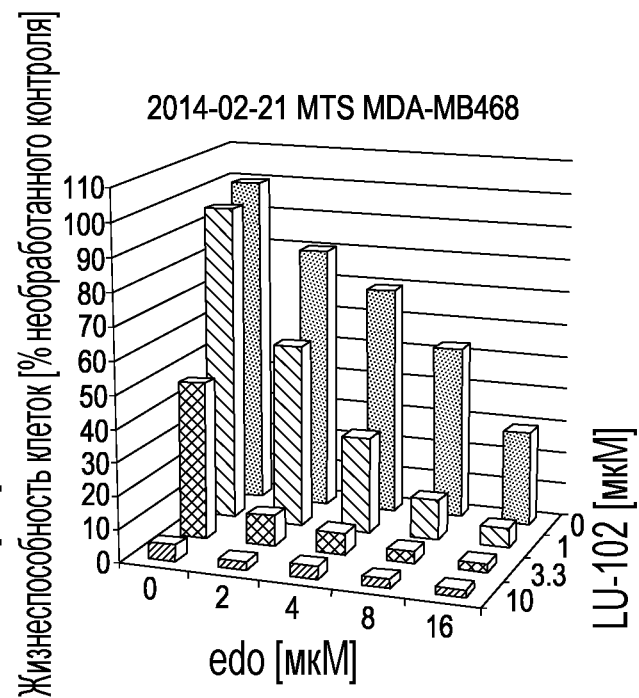
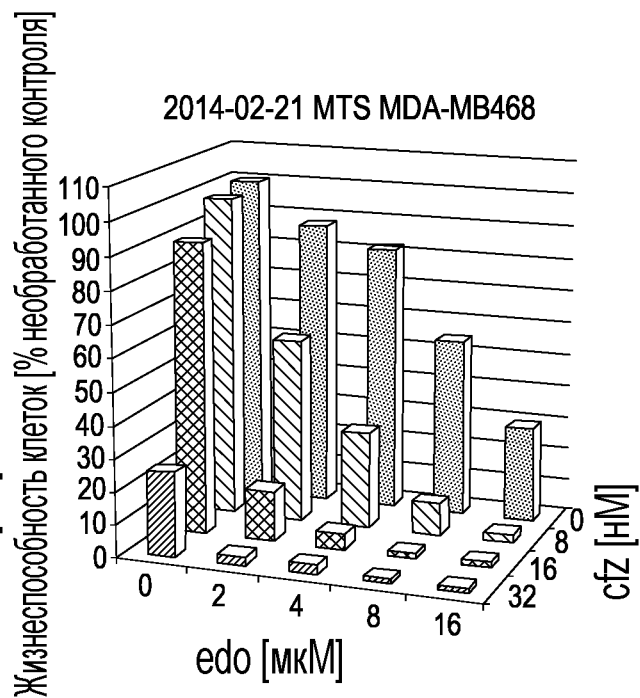
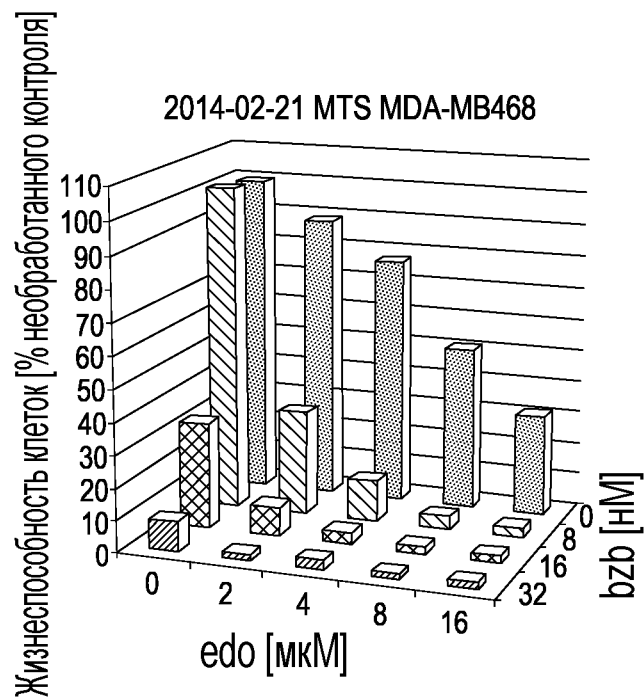
ФИГ. 5



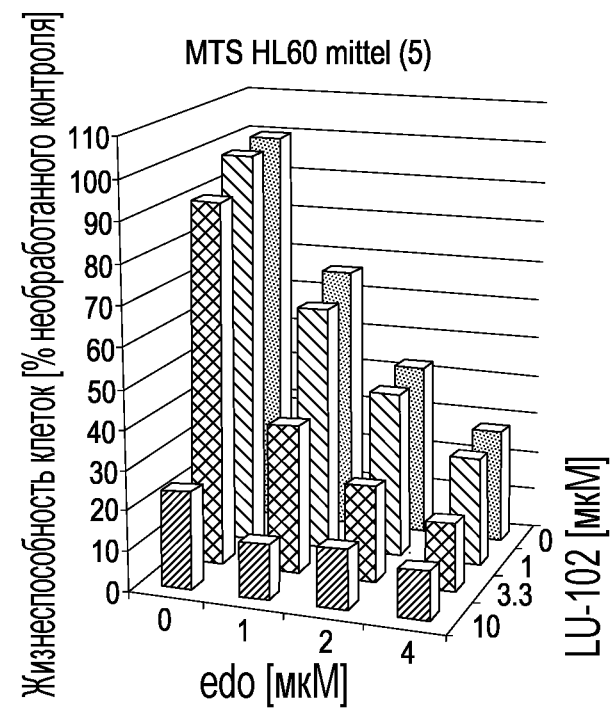
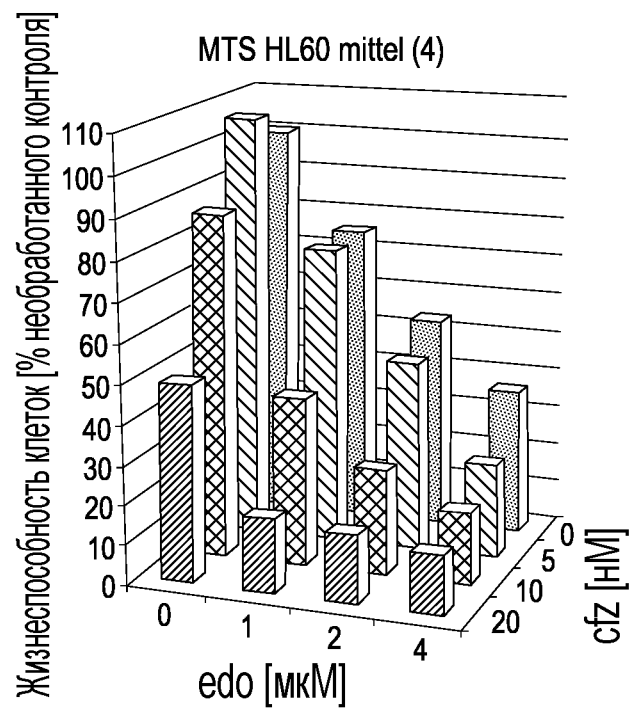
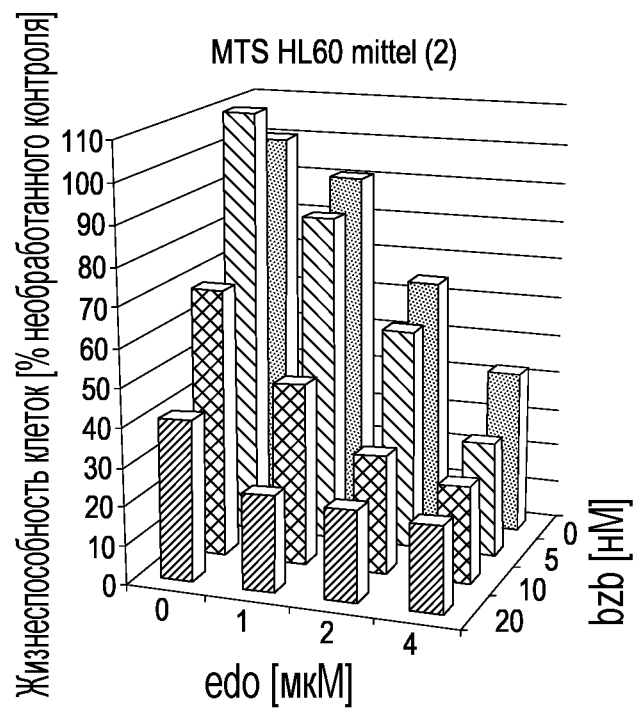
ФИГ. 6



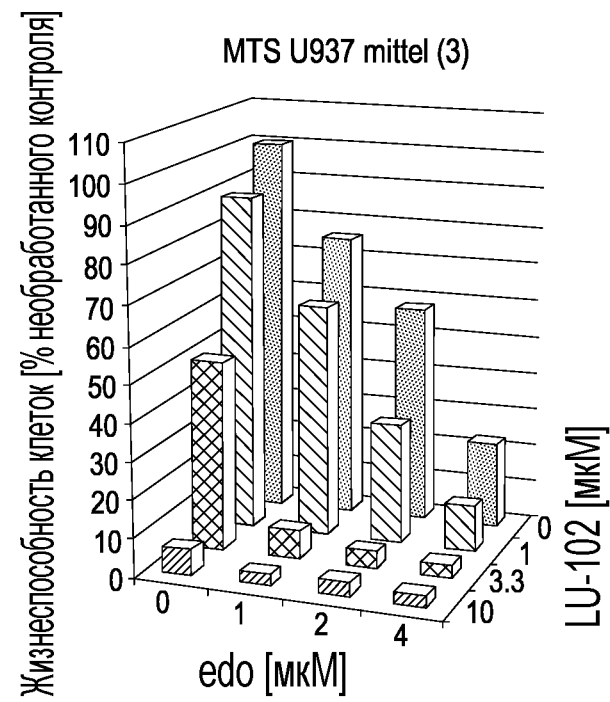
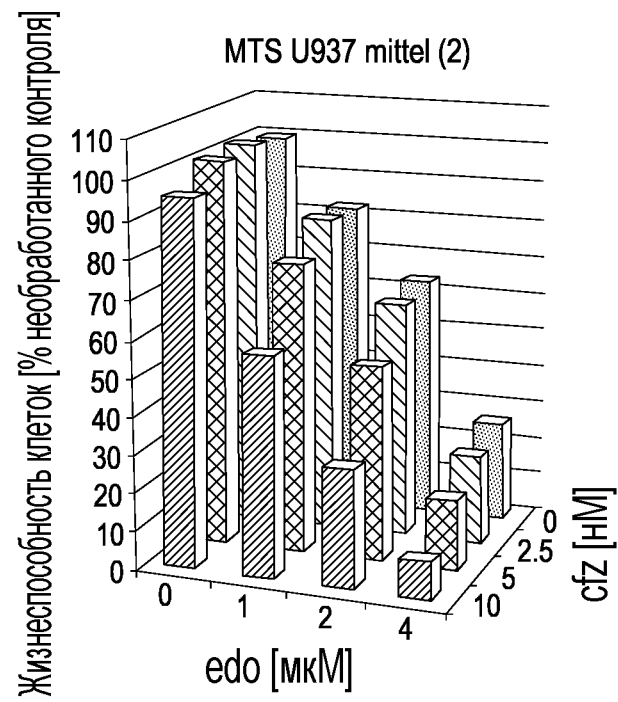
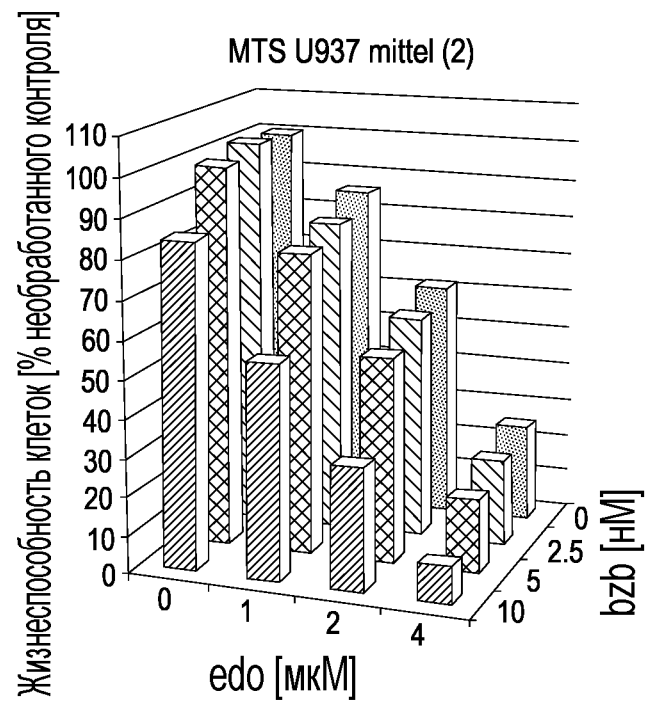
ФИГ. 7



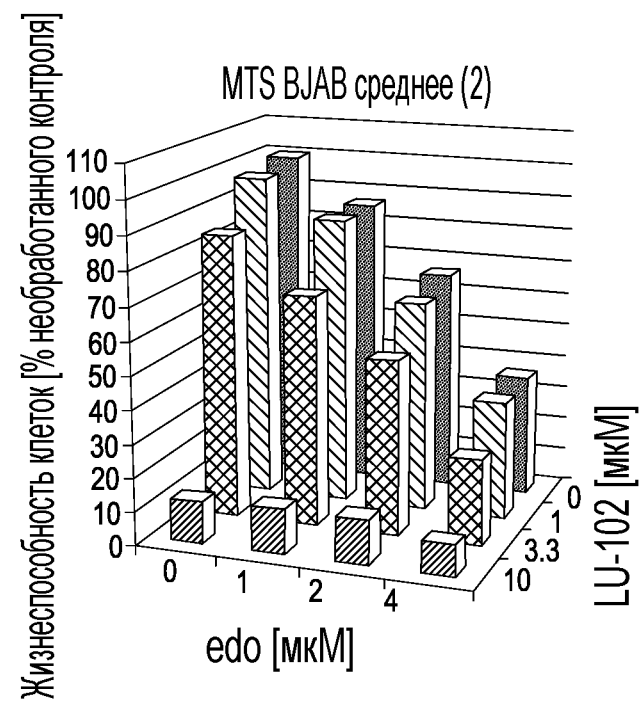
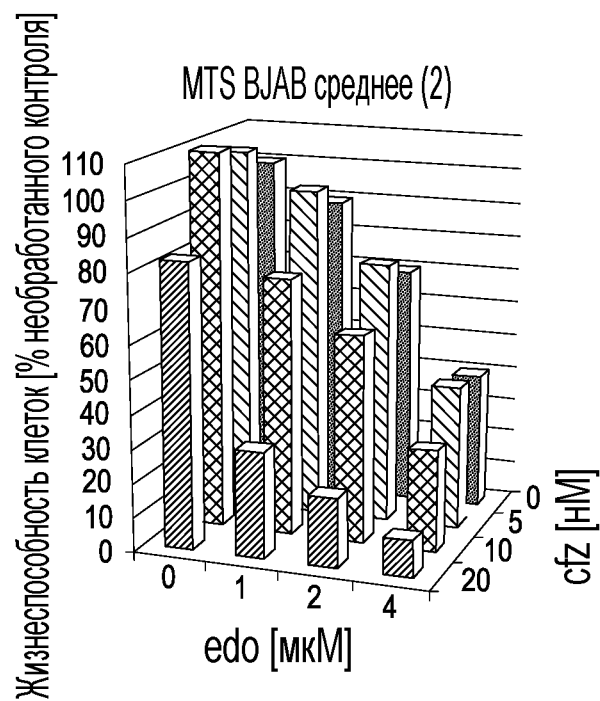
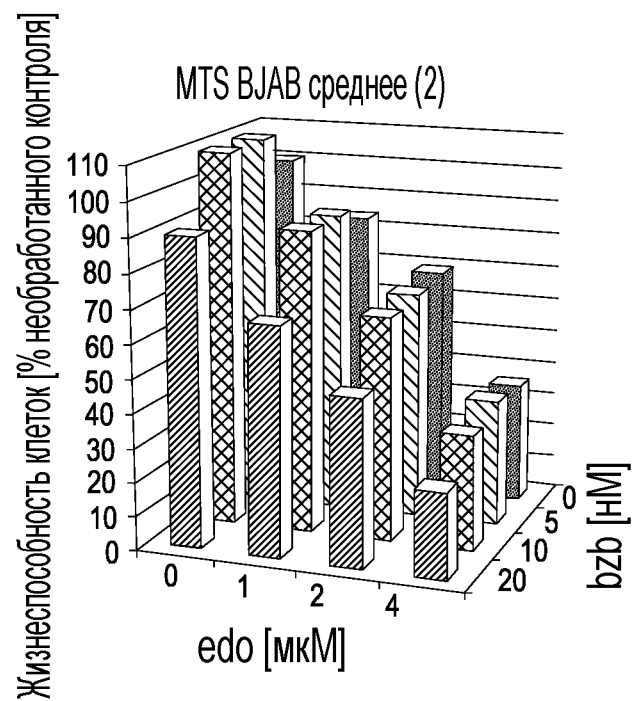
ФИГ. 8



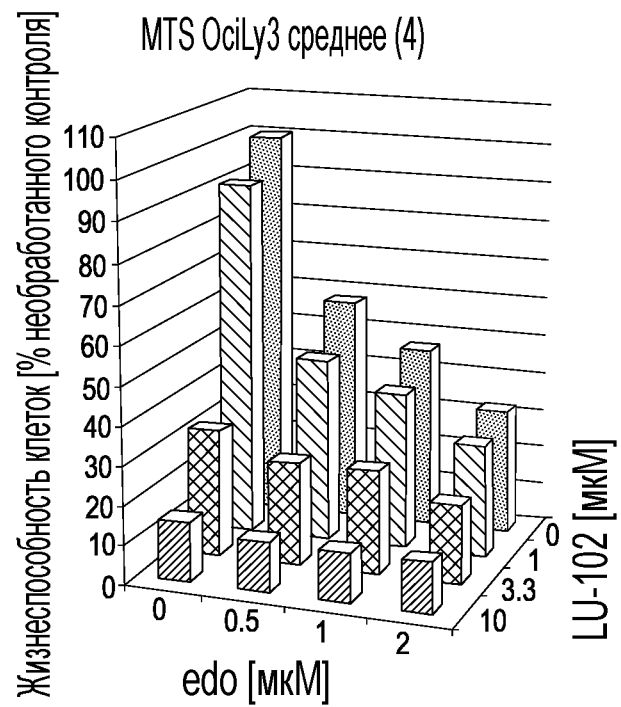
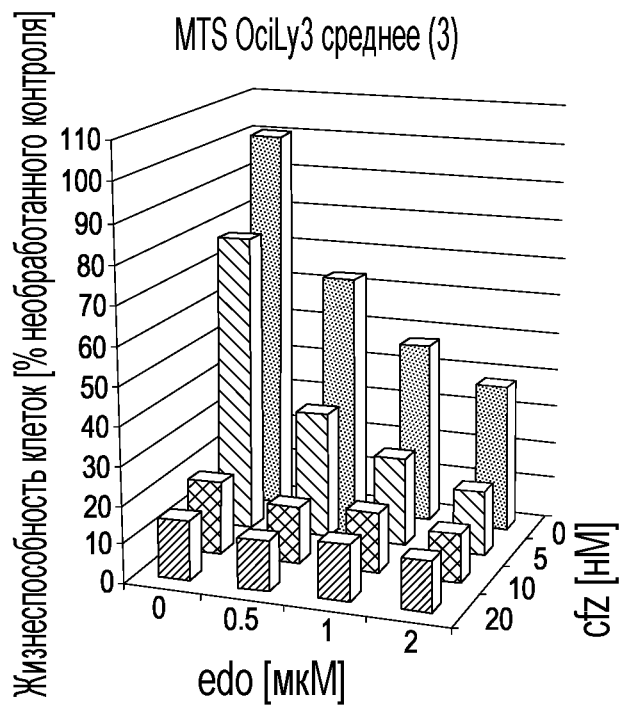
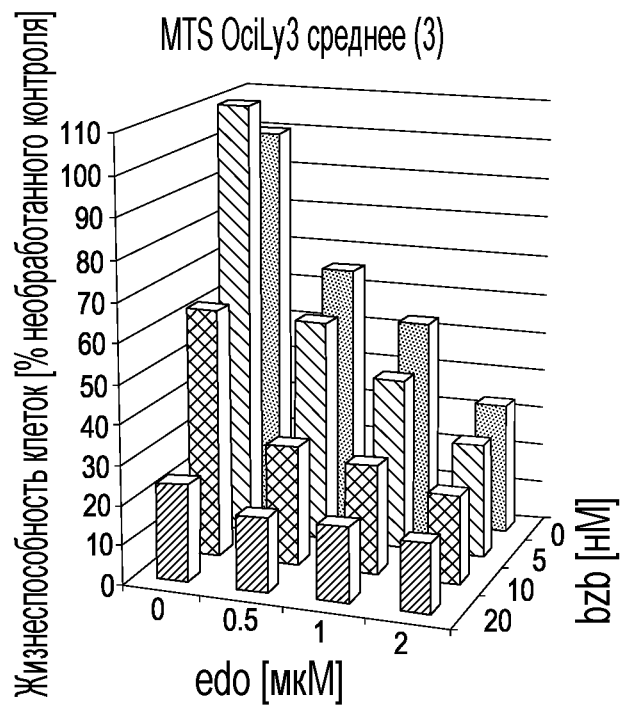
ФИГ. 9



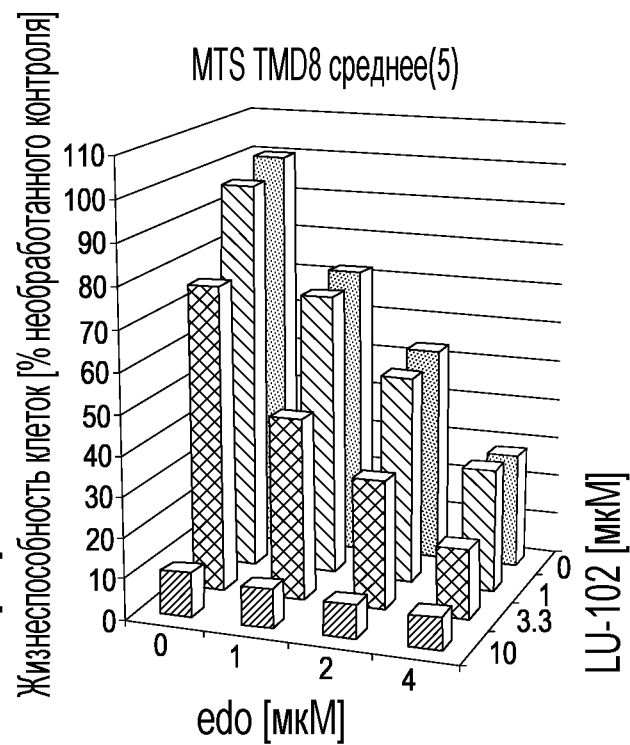
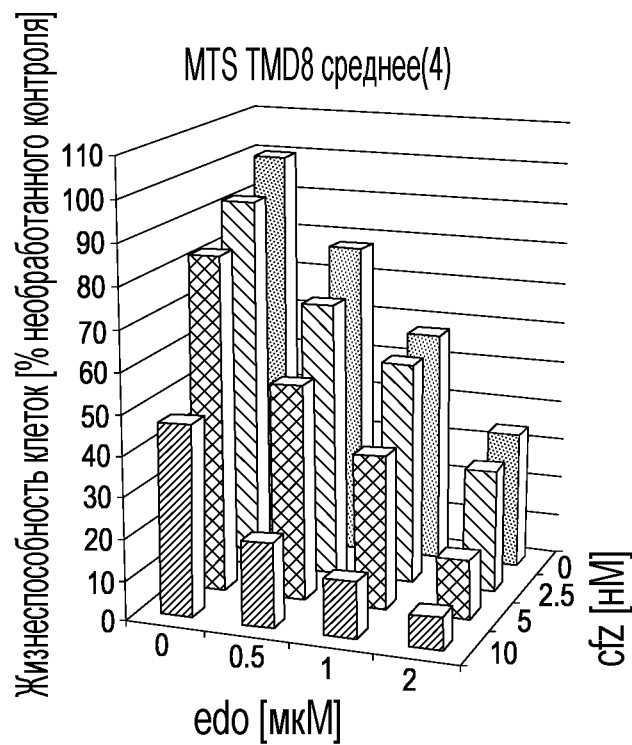
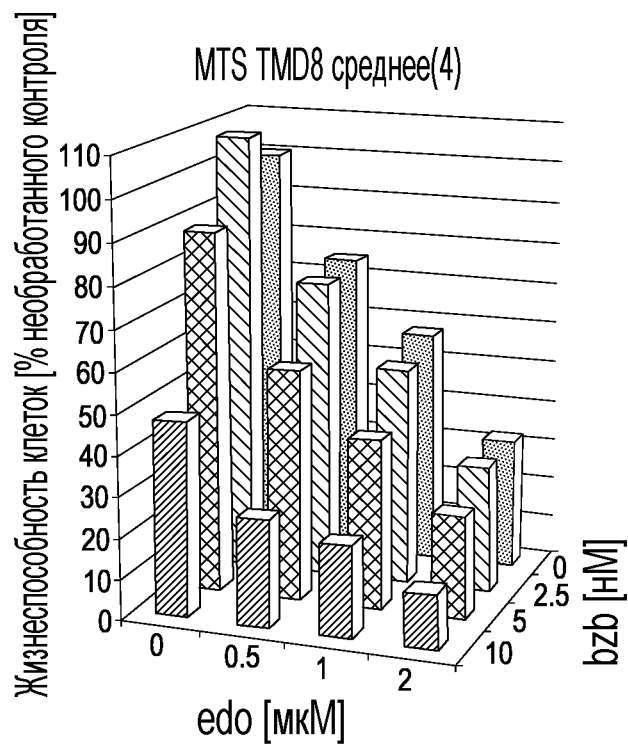
ФИГ. 10



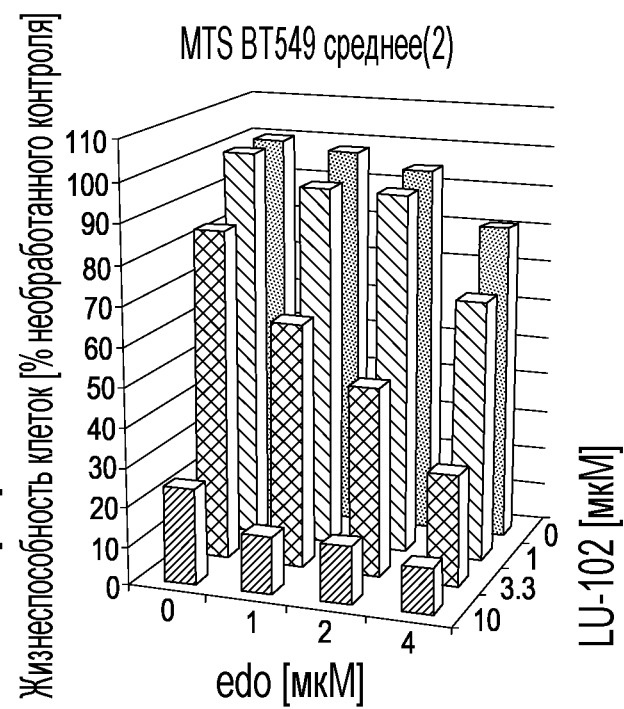
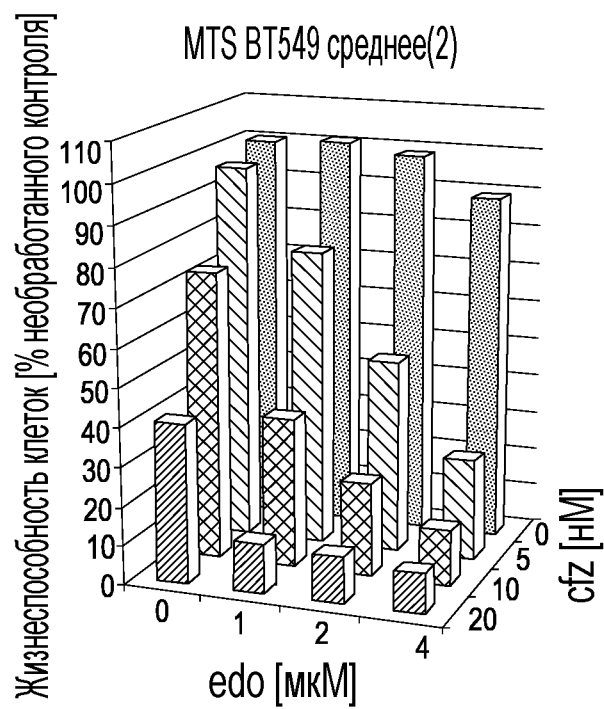
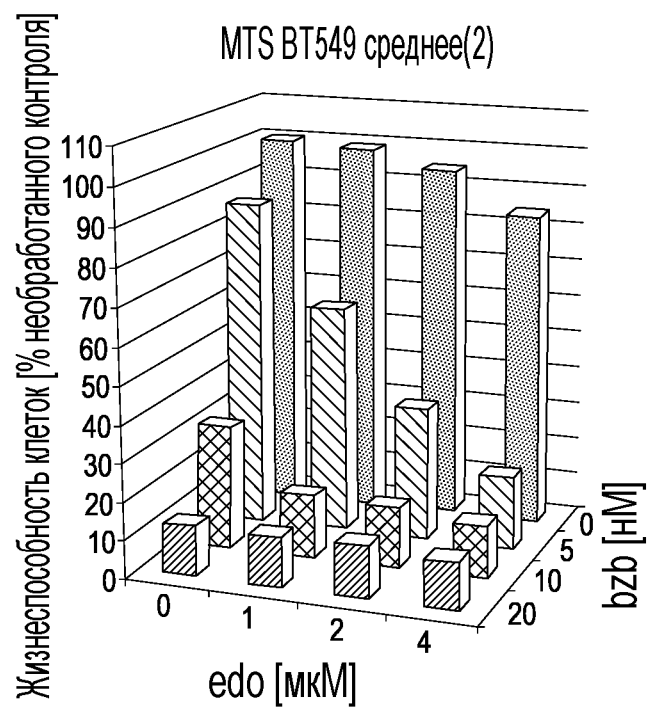
ФИГ. 11



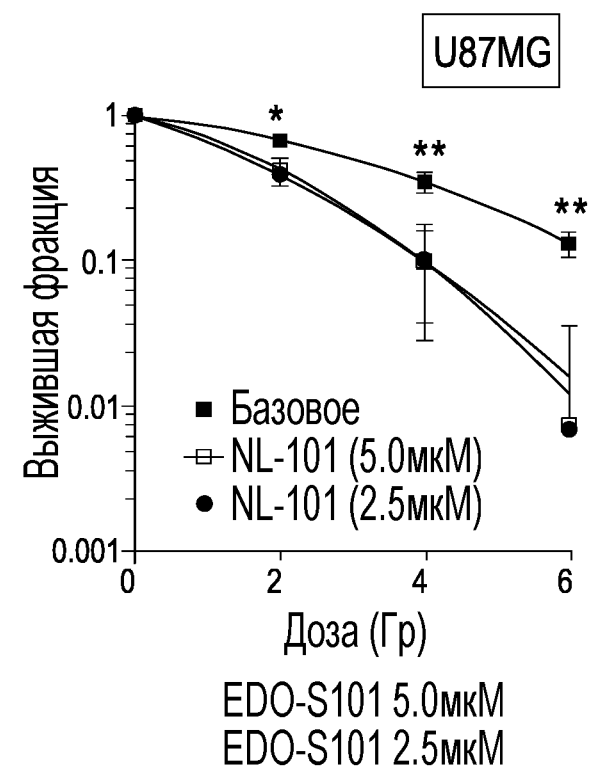
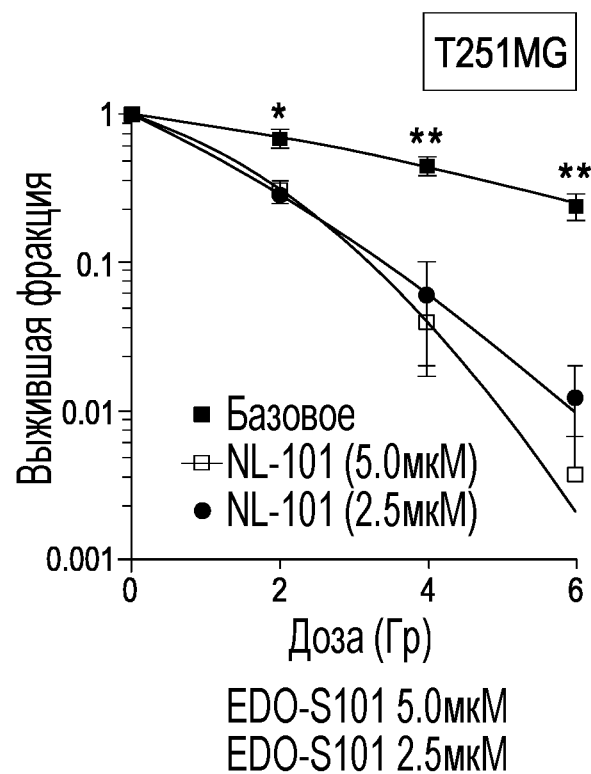
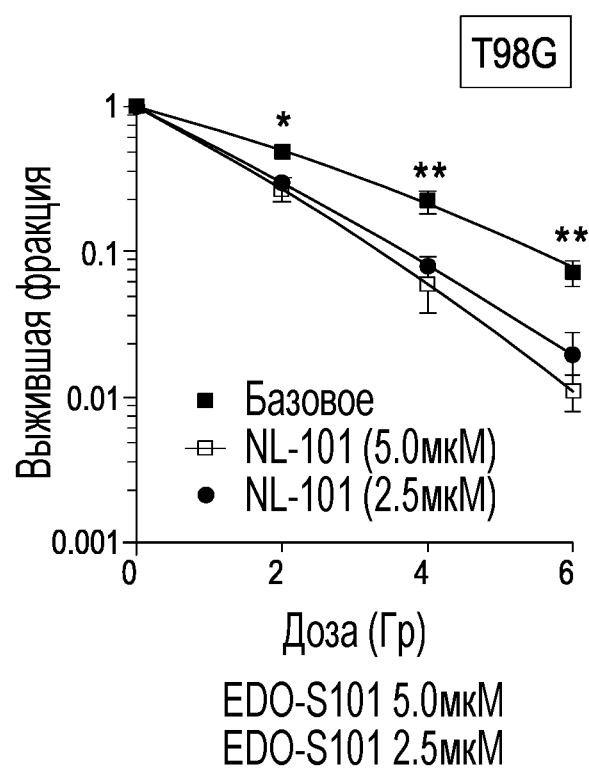
ФИГ. 12



ФИГ. 13



ФИГ. 14



ФИГ. 15