

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **034512**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2020.02.14**

(51) Int. Cl. *A61K 31/4985* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

(21) Номер заявки  
**201890768**

(22) Дата подачи заявки  
**2012.10.18**

---

(54) **ЛЕЧЕНИЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ ИНГИБИТОРАМИ TOR-КИНАЗЫ**

---

(31) **61/549,034; 61/591,401; 61/647,233;  
61/653,436**

(56) **WO-A1-2010062571  
RU-A-2009118623**

(32) **2011.10.19; 2012.01.27; 2012.05.15;  
2012.05.31**

(33) **US**

(43) **2018.08.31**

(62) **201490814; 2012.10.18**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**СИГНАЛ ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,  
ЭЛЭЛСИ (US)**

(72) Изобретатель:  
**Сюй Шуйчань, Хедж Кристен Мей,  
Лопес-Хирона Антония, Рэймон  
Хитер, Нарла Рама К., Чопра Раджеш  
(US)**

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

---

(57) В описании раскрыты способ лечения солидной опухоли и способ получения полного ответа, частичного ответа или стабильного заболевания, включающие введение эффективного количества 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пирозин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли или стереоизомера пациенту, страдающему солидной опухолью, где солидная опухоль представляет собой печеночно-клеточную карциному, и где солидная опухоль является устойчивой к рапамицину.

**B1**

**034512**

**034512**

**B1**

### 1. Область техники, к которой относится изобретение

В описании раскрыты способы лечения или профилактики солидной опухоли, где солидная опухоль представляет собой печеночно-клеточную карциному, и где солидная опухоль является устойчивой к рапамицину.

### 2. Предшествующий уровень техники

На протяжении более 20 лет известна связь между аномальным фосфорилированием белка и причиной или следствием заболеваний. Таким образом, протеинкиназы стали очень важной группой мишеней лекарственных средств. См. Cohen, *Nature*, 1:309-315 (2002). В клинической практике используют различные ингибиторы протеинкиназы для лечения широкого спектра заболеваний, таких как злокачественная опухоль и хронические воспалительные заболевания, включая диабет и инсульт. См. Cohen, *Eur. J. Biochem.*, 268:5001-5010 (2001), *Protein Kinase Inhibitors for the Treatment of Disease: The Promise and the Problems*, *Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer Berlin Heidelberg, 167 (2005).

Протеинкиназы представляют собой большое и разнообразное семейство ферментов, которые катализируют фосфорилирование белка и играют важную роль в клеточной сигнализации. Протеинкиназы могут оказывать положительное или отрицательное регуляторное действие, зависящее от их белкамишени. Протеинкиназы участвуют в специфических путях передачи сигнала, которые регулируют функции клетки, включая, но не ограничиваясь ими, такие как метаболизм, прохождение клеточного цикла, клеточная адгезия, функция сосудов, апоптоз и ангиогенез. Нарушение функционирования клеточной сигнализации связывали со многими заболеваниями, наиболее охарактеризованные из которых включают злокачественную опухоль и диабет. Хорошо документально подтверждена регуляция передачи сигнала цитокинами и ассоциация сигнальных молекул с протоонкогенами и генами-супрессорами опухоли. Аналогично, была продемонстрирована связь диабета и родственных патологических состояний с нерегулируемыми уровнями протеинкиназ. См., например, Sridhar et al., *Pharmaceutical Research*, 17(11): 1345-1353 (2000). Вирусные инфекции и связанные с ними патологические состояния также связывали с регуляцией протеинкиназ. Parked et al., *Cell*, 101 (7): 777-787 (2000).

Вследствие того, что протеинкиназы регулируют практически каждый клеточный процесс, включая метаболизм, клеточную пролиферацию, клеточную дифференцировку и выживание клетки, они являются привлекательными мишенями для терапевтического вмешательства для различных состояний болезни. Например, подавление клеточного цикла и ангиогенез, в которых протеинкиназы играют основную роль, представляют собой клеточные процессы, ассоциированные с рядом состояний заболеваний, таких как, но не ограничиваясь ими, злокачественная опухоль, воспалительные заболевания, аномальный ангиогенез и связанные с ним заболевания, атеросклероз, дегенерация желтого пятна, диабет, ожирение и боль.

Протеинкиназы стали привлекательными мишенями для лечения злокачественных опухолей. Fabbro et al., *Pharmacology & Therapeutics*, 93:79-98 (2002). Было сделано предположение, что вовлеченность протеинкиназ в развитие злокачественных новообразований человека может происходить путем (1) генной перестройки (например, BCR-ABL при хроническом миелогенном лейкозе), (2) мутаций, приводящих к конститутивно активной киназе, такой как острый миелогенный лейкоз и опухоли желудочно-кишечного тракта, (3) нарушения регуляции киназной активности в результате активации онкогенов или потери функций, опухоль-супрессорных функций, таких как при злокачественных опухолях с онкогенными RAS, (4) нарушения регуляции киназной активности в результате сверхэкспрессии, как в случае EGFR, и (5) эпителиальной экспрессии факторов роста, которые могут способствовать развитию и поддержанию неопластического фенотипа. Fabbro et al., *Pharmacology & Therapeutics*, 93:79-98 (2002).

Выяснение запутанных каскадов реакций протеинкиназы и сложности взаимосвязи и взаимодействия среди различных каскадов реакций протеинкиназы и киназы и между ними подчеркивает важность разработки фармацевтических средств, способных действовать как модуляторы, регуляторы или ингибиторы протеинкиназ, которые оказывают благоприятное действие на многие киназы или многие киназные каскады реакций. Таким образом, сохраняется потребность в новых модуляторах киназы.

Белок, называемый mTOR (мишень рапамицина у млекопитающих), который также называют FRAP, RAFT1 или RAPT1), представляет собой Ser/Thr протеинкиназу длиной 2549 аминокислот, для которой было показано, что она представляет собой один из наиболее важных белков в каскаде реакций mTOR/PI3K/Akt, который регулирует клеточный рост и пролиферацию. Georgakis and Younes, *Expert Rev. Anticancer Ther.*, 6(1): 131-140(2006). mTOR существует в виде двух комплексов mTORC1 и mTORC2. В то время как mTORC1 является чувствительным к аналогам рапамицина (таким как темси-ролимус или эверолимус), mTORC2, главным образом, является нечувствительным к рапамицину. Следует отметить, что рапамицин не является ингибитором TOR-киназы. Для лечения злокачественной опухоли в клинических испытаниях оценивали или оценивают несколько ингибиторов mTOR. В 2007 г. был одобрен темси-ролимус для применения при почечно-клеточной карциноме и в 1999 г. был одобрен сиролимус для профилактики отторжения почечного трансплантата. В 2009 г. был одобрен эверолимус для пациентов с почечно-клеточной карциномой, у которых отмечали прогрессирование с ингибиторами рецептора фактора роста эндотелия сосудов, в 2010 г. для субэпендимальной гигантоклеточной астроцитомы (SEGA), ассоциированной с туберозным склерозом (TS) у пациентов, которым необходима терапия, но которые не являются кандидатами для хирургического удаления, и в 2011 г. для прогрессирующих

нейроэндокринных опухолей панкреатического происхождения (PNET) у пациентов с неоперабельным, местно-распространенным или метастатическим заболеванием. Сохраняется потребность в ингибиторе TOR-киназы, который ингибирует комплексы mTORC1 и mTORC2.

Цитирование или определение какого-либо ссылочного документа в разделе 2 настоящей заявки не следует рассматривать как допущение, что ссылочный документ представляет собой известный уровень техники для настоящей заявки.

### 3. Сущность изобретения

Настоящее изобретение представляет собой способ лечения солидной опухоли, включающий введение эффективного количества 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли или стереоизомера пациенту, страдающему солидной опухолью, где солидная опухоль представляет собой печеночно-клеточную карциному, и где солидная опухоль является частично чувствительной к рапамицину.

В ещё одном аспекте настоящее изобретение представляет собой способ получения полного ответа, частичного ответа или стабильного заболевания, как определено критериями оценки ответа солидных опухолей (RECIST 1.1), у пациента, включающий введение эффективного количества 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли или стереоизомера пациенту, страдающему солидной опухолью, где солидная опухоль представляет собой печеночно-клеточную карциному, и где солидная опухоль является частично чувствительной к рапамицину.

### 4. Подробное описание

#### 4.1. Определения

Как используют в настоящем описании, термин "фармацевтически приемлемая соль(и)" относится к соли, получаемой из фармацевтически приемлемой нетоксической кислоты или основания, включая неорганическую кислоту и основание и органическую кислоту и основание. Подходящие фармацевтически приемлемые соли присоединения оснований ингибитора TOR-киназ включают, но не ограничиваются ими, соли металлов, получаемые из алюминия, кальция, лития, магния, калия, натрия и цинка, или органические соли, получаемые из лизина, N,N'-дибензилэтилендиамина, хлорпрокаина, холина, диэтанолamina, этилендиамина, меглумина (N-метилглюкамина) и прокаина. Подходящие нетоксические кислоты включают, но не ограничиваются ими, неорганические и органические кислоты, такие как уксусная, альгиновая, антралиловая, бензолсульфовая, бензойная, камфорсульфовая, лимонная, этенсульфовая, муравьиная, фумаровая, фуранкарбоновая, галактуриновая, глюконовая, глюкуроновая, глутаминовая, гликолевая, бромистоводородная, соляная, изетионовая, молочная, малеиновая, яблочная, миндальная, метансульфовая, муциновая, азотная, памовая, пантотеновая, фенилуксусная, фосфорная, пропионовая, салициловая, стеариновая, янтарная, сульфаниловая, серная, винная кислота и паратолуолсульфовая кислота. Конкретные нетоксические кислоты включают соляную, бромистоводородную, фосфорную, серную и метансульфовую кислоты. Примеры конкретных солей, таким образом, включают гидрохлоридные и мезилатные соли. Другие соли хорошо известны в данной области, см., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18<sup>th</sup> eds., Mack Publishing, Easton PA (1990) или Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19<sup>th</sup> eds., Mack Publishing, Easton PA (1995).

Как используют в настоящем описании и если не указано иное, термин "стереоизомер" или "стереоизомерно чистый" означает один стереоизомер ингибитора TOR-киназы, который, по существу, не содержит других стереоизомеров этого соединения. Например, стереоизомерно чистое соединение, содержащее один хиральный центр, по существу, не содержит противоположный энантиомер соединения. Стереоизомерно чистое соединение, содержащее два хиральных центра, по существу, не содержит другие диастереомеры соединения. Характерное стереоизомерно чистое соединение содержит более приблизительно 80 мас.% одного стереоизомера соединения и менее приблизительно 20 мас.% других стереоизомеров соединения, более приблизительно 90 мас.% одного стереоизомера соединения и менее приблизительно 10 мас.% других стереоизомеров соединения, более приблизительно 95 мас.% одного стереоизомера соединения и менее приблизительно 5 мас.% других стереоизомеров соединения или более приблизительно 97 мас.% одного стереоизомера соединения и менее приблизительно 3 мас.% других стереоизомеров соединения. Ингибиторы TOR-киназы могут содержать хиральные центры и могут существовать в виде рацематов, индивидуальных энантиомеров или диастереомеров и их смесей. Все такие изомерные формы входят в объем вариантов осуществления, описываемых в настоящем описании, включая их смеси. Использование стереоизомерно чистых форм таких ингибиторов TOR-киназы, а также использование смесей таких форм входит в объем вариантов осуществления, описываемых в настоящем описании. Например, в способах и композициях, описываемых в настоящем описании, можно использовать смеси, содержащие эквивалентные или неэквивалентные количества энантиомеров конкретного ингибитора TOR-киназы. Эти изомеры можно получать асимметричным синтезом или разделять стандартными способами, такими как хиральные колонки или средства для хирального разделения. См., например, Jacques, J. et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley-Interscience, New York, 1981), Wilen S.H. et al., *Tetrahedron*, 33:2725 (1977), Eliel E.L., *Stereochemistry of Carbon Compounds*, (McGraw-

Hill, NY, 1962) и Wilen S.H., Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972).

Также следует отметить, что ингибиторы TOR-киназы могут содержать E- и Z-изомеры или их смесь и цис- и транс-изомеры или их смесь. В определенных вариантах осуществления ингибиторы TOR-киназы выделяют в виде цис- и транс-изомера. В других вариантах осуществления ингибиторы TOR-киназы представляют собой смесь цис- и транс-изомеров.

"Прогрессирующая солидная опухоль", как используют в настоящем описании, означает солидную опухоль, которая распространилась местно или метастазировала или распространилась в другую часть организма.

"Лечение", как используют в настоящем описании, означает полное или частичное снятие симптомов, ассоциированных с нарушением или заболеванием (например, солидной опухолью (например, нейроэндокринной опухолью, немелкоклеточным раком легких, мультиформной глиобластомой, печеночно-клеточной карциномой, раком молочной железы, колоректальным раком, раком слюнных желез, раком поджелудочной железы, аденокистозным раком или злокачественной опухолью надпочечников), неходжкинской лимфомой или множественной миеломой), или замедление или остановка дальнейшего прогрессирования или усугубления таких симптомов. В другом варианте осуществления солидная опухоль представляет собой рак пищевода, рак почки, лейомиосаркому или параганглиому.

"Профилактика", как используют в настоящем описании, означает предотвращение полностью или частично начала, частоты возникновения или распространения заболевания или нарушения (например, солидной опухоли (например, нейроэндокринной опухоли, немелкоклеточного рака легких, мультиформной глиобластомы, печеночно-клеточной карциномы, рака молочной железы, колоректального рака, рака слюнных желез, рака поджелудочной железы, аденокистозного рака или злокачественной опухоли надпочечников), неходжкинской лимфомы или множественной миеломы) или их симптома. В другом варианте осуществления солидная опухоль представляет собой рак пищевода, злокачественную опухоль почки, лейомиосаркому или параганглиому.

Термин "эффективное количество" применительно к ингибитору TOR-киназы означает количество, способное полностью или частично ослаблять симптомы, ассоциированные с солидной опухолью (например, нейроэндокринной опухолью, немелкоклеточным раком легких, мультиформной глиобластомой, печеночно-клеточной карциномой, раком молочной железы, колоректальным раком, раком слюнных желез, раком поджелудочной железы, аденокистозным раком или злокачественной опухолью надпочечников), неходжкинской лимфомой или множественной миеломой, или замедлять или останавливать дальнейшее прогрессирование или усугубление таких симптомов, или обеспечивать лечение или профилактику солидной опухоли (например, нейроэндокринной опухоли, немелкоклеточного рака легких, мультиформной глиобластомы, печеночно-клеточной карциномы, рака молочной железы, колоректального рака, рака слюнных желез, рака поджелудочной железы, аденокистозного рака или злокачественной опухоли надпочечников), неходжкинской лимфомы или множественной миеломы у индивидуума, страдающего или подвергающегося риску развития солидной опухоли, неходжкинской лимфомы или множественной миеломы. В другом варианте осуществления солидная опухоль представляет собой рак пищевода, злокачественную опухоль почки, лейомиосаркому или параганглиому. Эффективное количество ингибитора TOR-киназы, например, в фармацевтической композиции может находиться на уровне, который оказывает желаемое действие, например, приблизительно от 0,005 мг/кг массы тела индивидуума приблизительно до 100 мг/кг массы тела пациента, в единице дозирования для перорального и парентерального введения. Как будет понятно специалистам в данной области, предполагают, что эффективное количество ингибитора TOR-киназы, описываемого в настоящем описании, может изменяться в зависимости от тяжести симптома, подлежащего лечению.

Термины "пациент" и "индивидуум", как используют в настоящем описании, включает животное, включая, но не ограничиваясь ими, животное, такое как корова, обезьяна, лошадь, овца, свинья, курица, индейка, перепел, кошка, собака, мышь, крыса, кролик или морская свинка, в одном из вариантов осуществления млекопитающее, в другом варианте осуществления человека. В одном из вариантов осуществления "пациент" или "индивидуум" представляет собой человека, страдающего солидной опухолью, неходжкинской лимфомой или множественной миеломой. В одном из вариантов осуществления пациент представляет собой человека, страдающего гистологически и цитологически подтвержденной прогрессирующей неходжкинской лимфомой, множественной миеломой или прогрессирующими неоперабельными солидными опухолями, включая индивидуумов, у которых отмечают прогрессирование при (или которые неспособны переносить) стандартной противоопухолевой терапии, или для которых не существует стандартной противоопухолевой терапии. В одном из вариантов осуществления "пациент" или "индивидуум" представляет собой пациента, страдающего раком молочной железы, который ранее подвергался мастэктомии или который ранее получал один или более следующих ниже видов терапии: химиотерапию (включая дополнительную химиотерапию (AC)) (например, доксорубицином, амрубицином, циклофосфамидом, винорелбином, метотрексатом или 5-фторурацилом), терапию таксанами (например, доцетакселом или паклитакселом), терапию модуляторами ER-рецепторов (например, тамоксифеном или фулвестрантом), терапию агонистом гонадотропин-высвобождающего гормона (GnRH) (например, Lurpion®),

терапию антителом, направленным к рецептору HER2/neu (например, трастузумабом), терапию ингибитором фактора роста эндотелия сосудов А (например, бевацизумабом), терапию ингибитором ароматазы (например, анастрозолом, летрозолом или экземестаном), терапию mAb против IGFR, терапию ингибитором PI3K, терапию гемцитабином, терапию ингибитором Mek, терапию ингибитором cMet (например, ARC197), терапию ингибитором PI3K/mTOR (например, XL765), терапию капецитабином или дистанционную лучевую терапию всей молочной железы (WB XRT).

В отношении солидной опухоли (например, нейроэндокринной опухоли, немелкоклеточного рака легких, мультиформной глиобластомы, печеночно-клеточной карциномы, рака молочной железы, колоректального рака, рака слюнных желез, рака поджелудочной железы, аденокистозного рака или злокачественной опухоли надпочечников), неходжкинской лимфомы или множественной миеломы лечение можно оценивать наряду с другими по ингибированию или замедлению прогрессирования заболевания, ингибированию роста опухоли, уменьшению или регрессии первичной и/или вторичной опухоли(ей), ослаблению, связанному с опухолью симптомам, улучшению качества жизни, ингибированию секреторных опухолью факторов (включая секретируемые опухолью гормоны, такие как гормоны, которые способствуют карциноидному синдрому), снижению маркеров эндокринных гормонов, (например, хромогранина, гастрин, серотонин и/или глюкагона), позднему появлению или рецидиву первичной и/или вторичной опухоли(ей), замедленному развитию первичной и/или вторичной опухоли(ей), сниженной частоте появления первичной и/или вторичной опухоли(ей), замедленной или уменьшенной тяжести вторичные последствия заболевания, блокированному росту опухоли и/или регрессии опухолей, увеличенному времени до прогрессирования (TTP), увеличенной выживаемости без прогрессирования (PFS), увеличенной общей выживаемости (OS). OS, как используют в настоящем описании, означает период времени от момента рандомизации до смерти по любой причине, и ее измеряют в популяциях всех пациентов, участвующих в лечении. TTP, как используют в настоящем описании, означает период времени от момента рандомизации до объективного прогрессирования опухоли, TTP не включает смертность. Как используют в настоящем описании, PFS означает период времени от момента рандомизации до объективного прогрессирования опухоли или смерти. В одном из вариантов осуществления показатели PFS количественно оценивают с использованием оценок Каплана-Мейера. В другом варианте осуществления солидная опухоль представляет собой рак пищевода, рак почки, лейомиосаркому или параганглиому. В определенных вариантах осуществления лечение солидных опухолей можно оценивать посредством критериев оценки ответа солидных опухолей (RECIST 1.1) (см. Thereasse P. et al., New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors. J. of the National Cancer Institute, 2000, (92) 205-216 и Eisenhauer E.A., Therasse P., Bogaerts J. et al., New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). European J. Cancer, 2009; (45) 228-247). Все ответы для всех возможных комбинаций ответов опухолей в целевой и нецелевом очагах с появлением новых очагов или без них являются такими, как указано ниже

Целевые очаги	Нецелевые очаги	Новые очаги	Общий ответ
CR	CR	нет	CR
CR	неполный ответ/SD	нет	PR
PR	не-PD	нет	PR
SD	не-PD	нет	SD
PD	любые	да или нет	PD
любые	PD	да или нет	PD
любые	любые	да	PD

CR = полный ответ; PR = частичный ответ; SD = стабильное заболевание и PD = прогрессирующее заболевание.

В отношении оценки целевых очагов полный ответ (CR) представляет собой исчезновение всех целевых очагов, частичный ответ (PR) представляет собой по меньшей мере 30% снижение суммы наибольшего диаметра целевых очагов, принимая в качестве эталонной величины исходную сумму наибольшего диаметра, прогрессирующее заболевание (PD) представляет собой по меньшей мере 20% увеличение суммы наибольшего диаметра целевых очагов, принимая в качестве эталонной величины наименьшую сумму наибольшего диаметра, зарегистрированного после начала лечения, или появление одного или более новых опухолевых очагов, и стабильное заболевание (SD) представляет собой как отсутствие достаточного уменьшения размера для того, чтобы квалифицировать как частичный ответ, так и достаточного увеличения, чтобы квалифицировать как прогрессирующее заболевание, принимая в качестве эталонной величины наименьшую сумму наибольшего диаметра после начала лечения.

В отношении оценки нецелевых очагов полный ответ (CR) представляет собой исчезновение всех

нецелевых очагов и нормализацию уровня опухолевых маркеров; неполный ответ/стабильное заболевание (SD) представляет собой персистенцию одного или более нецелевых очагов и/или сохранение уровня опухолевых маркеров выше нормальных границ, и прогрессирующее заболевание (PD) представляет собой появление одного или более новых опухолевых очагов и/или однозначное прогрессирование существующих нецелевых очагов.

В определенных вариантах осуществления лечение лимфомы можно оценивать по международным экспертным критериям (IWC) для неходжкинской лимфомы (NHL) (см. Cheson B.D., Pfistner B., Juweid M.E. et al., Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma, J. Clin. Oncol, 2007, (25) 579-586) с использованием определений ответа и конечной точки, как представлено ниже

Ответ	Определение	Массы узлов	Селезенка, печень	Костный мозг
CR	Исчезновение всех признаков заболевания	(a) FDG-специфические или PET-положительные до начала терапии; допускают массу любого размера, если PET	Не пальпируемые, узлы исчезают	При повторной биопсии осветленный инфильтрат; если невозможно определить по
		отрицательный; (b) Изменяющиеся FDG-специфические или PET-отрицательные; ремиссия до нормального размера на СТ		морфологии, иммуногистохимия должна быть отрицательной
PR	Ремиссия измеряемого заболевания и отсутствие новых участков	≥50% снижение SPD до 6 наиболее крупных преобладающих масс; отсутствие увеличения размера других узлов (a) FDG-специфические или PET-положительные до терапии; один или более PET-положительных ранее пораженного участка (b) Изменяющиеся FDG-специфические или PET-отрицательные; ремиссия на СТ	≥50% снижение SPD узлов (для одного узла наибольшего поперечного диаметра); отсутствие увеличения размера печени или селезенки	Не имеет значения, если положительный до терапии; необходимо определять тип клеток
SD	Невозможность получить CR/PR или PD	(a) FDG-специфические или PET-положительные до терапии; PET-положительные на установленных ранее участках заболевания и отсутствие новых участков на СТ или PET (b) Изменяющиеся FDG-специфические или PET-отрицательные;		

		отсутствие изменения размера установленных ранее очагов на СТ		
PD или рецидивирующее заболевание левая граница	Любой новый очаг или повышение на $\geq 50\%$ ранее пораженных участков от нижней границы	Появление нового очага (ов) $\geq 1,5$ см по любой оси, $\geq 50\%$ увеличение SPD более одного узла, или $\geq 50\%$ увеличение наибольшего диаметра ранее идентифицированного узла $\geq 1$ см по малой оси. Очаги повреждения PET-положительные, если FDG-специфическая лимфома или PET-положительные до терапии	$\geq 50\%$ увеличение от нижней границы в SPD любых ранее установленных очагов опухоли	Новое или рецидивирующее поражение

Сокращенные обозначения: CR - полная ремиссия; FDG - [ $^{18}\text{F}$ ]фтордезоксиглюкоза; PET - позитронно-эмиссионная томография; CT - компьютерная томография; PR - частичная ремиссия; SPD - сумма произведений диаметров; SD - стабильное заболевание; PD - прогрессирующее заболевание.

Конечная точка	Пациенты	Определение	Измеряемая от
<b>Первичная</b>			
Общая выживаемость	Все	Смерть в результате любой причины	Включение в исследование
Выживаемость без прогрессирования	Все	Прогрессирование заболевания или смерть в результате любой причины	Включение в исследование
<b>Вторичная</b>			
Бессобытийная выживаемость	Все	Неудачное лечение или смерть в результате любой причины	Включение в исследование
Период времени до прогрессирования	Все в CR	Период времени до прогрессирования или смерть в результате лимфомы	Включение в исследование
Выживаемость без признаков заболевания	В CR или PR все	Период времени до рецидива или смерть в результате лимфомы или острой токсичности лечения	Документирование ответа
Продолжительность ответа	Все	Период времени до рецидива или прогрессирования	Документирование ответа
Лимфома-специфическая выживаемость	Все	Период времени до смерти в результате лимфомы	Включение в исследование
Период времени до следующего лечения		Период времени до нового лечения	Конец первичного лечения

Сокращенные обозначения: CR - полная ремиссия; PR - частичная ремиссия.

Сокращенные обозначения: CR - полный ответ; FLC - свободная легкая цепь; PR - частичный ответ; SD - стабильное заболевание; sCR - строгий полный ответ; VGPR - очень хороший частичный ответ; <sup>a</sup> для всех категорий ответов необходимо проведение двух последовательных оценок в любой момент времени до назначения любой новой терапии; для всех категорий также необходимым является отсутствие известного доказательства прогрессирования или новых повреждений кости в случае проведения рентгенографических исследований. Рентгенографические исследования не требуются, чтобы соответствовать

этим критериям ответа; <sup>b</sup> не требуется подтверждения повторной биопсии костного мозга; <sup>c</sup> наличие/отсутствие клональных клеток основано на соотношении к/λ. Для определения аномального соотношения к/λ иммуногистохимией и/или иммунофлуоресценцией необходимо как минимум 100 плазматических клеток для анализа. Аномальное соотношение, отражающее наличие аномального клона, представляет собой к/λ >4:1 или <1:2. <sup>d</sup> Измеряемое заболевание, определяемое по меньшей мере посредством одного следующих ниже измерений: плазматические клетки костного мозга ≥30%; уровень М-белка в сыворотке ≥1 г/дл (≥10 мг/л)[10 г/л]; уровень М-белка в моче ≥200 мг/24 ч; анализ FLC в сыворотке: уровень вовлеченного уровня FLC ≥10 мг/дл (>100 мг/л), при условии, что соотношение FLC в сыворотке является аномальным.

Способы, допущения и определения, описанные ниже, представляют собой руководство для обеспечения рекомендаций рабочей группы по оценкам ответов для нейроонкологии (RANO) в отношении критериев ответа для глиом высокой степени злокачественности (Wen P., Macdonald D.R., Reardon, D.A. et al., Updated response assessment criteria for highgrade gliomas: Response assessment in neuro-oncology working group. *J. Clin. Oncol.*, 2010, 28: 1963-1972). Первичные модификации критериев RANO для критериев ответов в определенные моменты времени (TPR) могут включать добавление оперативных допущений для определения изменений дозы глюкокортикоидов и устранения компонента клинического ухудшения у индивидуума для концентрирования на объективных рентгенологических оценках. Исходное МРТ сканирование определяют как оценку, проводимую в конце постоперационного периода покоя до возобновления лечения соединением. МРТ исходного уровня используют в качестве референсного показателя для оценки полного ответа (CR) и частичного ответа (PR). Таким образом, наименьшая SPD (сумма произведений перпендикулярных диаметров), получаемая при исходной или при последующих оценках, обозначает нижнюю границу оценки, и ее используют в качестве референсной величины для определения прогрессирования. За 5 суток до любого определяемого протоколом МРТ сканирования индивидуумы не получают глюкокортикоиды или получают стабильную дозу глюкокортикоидов. Стабильная доза определяется как аналогичная суточная доза в течение 5 последовательных суток, предшествующих МРТ сканированию. В случае, когда предписанную дозу глюкокортикоидов изменяют за 5 суток до сканирования исходного уровня, необходимо новое исходное сканирование с глюкокортикоидом с использованием подходящих критериев, описанных выше. Используют следующие ниже определения.

**Измеряемые очаги повреждения.** Измеряемые очаги повреждения представляют собой накапливающие контрастное вещество очаги повреждения, которые можно измерять в двухмерном режиме. Измерение состоит из максимального диаметра накапливающей контрастное вещество опухоли (также известного как наибольший диаметр, LD). Наибольший перпендикулярный диаметр измеряют на том же самом изображении. Перекрытие двухмерных измерений должно перекрываться, и вычисляют произведение этих диаметров.

**Минимальный диаметр.**

T1-взвешенное изображение, в котором участки составляют 5 мм с шагом 1 мм. Минимальный LD измеряемого очага устанавливают как 5 мм на 5 мм. Наибольшие диаметры могут являться необходимыми для включения и/или обозначения как целевые очаги. После определения исходного уровня целевые очаги, которые становятся меньше, чем минимальная величина, необходимая для измерения, или становятся больше не поддающимися двухмерному измерению, регистрируют как значение по умолчанию 5 мм для каждого диаметра мене 5 мм. Очаги, которые исчезают, регистрируют как 0 мм на 0 мм.

**Многофокусные очаги.** Очаги, которые считают многофокусными (в противоположность неразрывным), представляют собой очаги, где нормальная ткань головного мозга находится между двумя (или более) очагами. Для многофокусных очагов, которые представляют собой отдельные очаги накопления контрастного вещества, подход основан на отдельном измерении накапливающего контрастного вещества очага, который соответствует критериям включения. Если не встречается нормальной ткани головного мозга между двумя (или более) очагами, их считают одним и тем же очагом.

**Неизмеряемые очаги.** Все очаги, которые не соответствуют критериям для измеряемого заболевания, как определено выше, считают неизмеряемыми очагами, а также все не накапливающие контраст и другие действительно неизмеряемые очаги. Неизмеряемые очаги включают очаги усиления контраста, которые составляют менее чем определяемый наименьший диаметр (т.е. менее 5 мм на 5 мм), не накапливающие контраст очаги (например, как видно на T1-взвешенных изображениях после введения контрастного вещества, T2-взвешенных изображениях или инверсии-восстановления с ослаблением сигнала от жидкости [FLAIR]), геморрагические или преимущественно кистозные или некротические очаги и лептоменингеальную опухоль. Геморрагические очаги, как правило, имеют характерную T1-взвешенную гиперинтенсивность, которую можно неправильно интерпретировать как накапливающая контрастное вещество опухоль, и по этой причине можно анализировать T1-взвешенные изображения до введения контрастного вещества для исключения исходного уровня или внутренних подострых кровотечений.

На исходном уровне очаги классифицируют, как указано ниже. Целевые опухолевые очаги: в качестве целевых очагов можно выбирать до 5 измеряемых очагов, где каждый является измеряемым по меньшей мере 10 мм на 5 мм, характерного заболевания индивидуума; нецелевые очаги: все другие оча-

ги, включая все неизмеряемые очаги (включая масс-эффекты и результаты T2/FLAIR) и любой измеряемый очаг, невыбранный в качестве целевого очага. На исходном уровне целевые очаги следует измерять, как описано в определении для измеряемых очагов, и необходимо определять SPD всех целевых очагов. Наличие всех других очагов необходимо документировать. При оценке в период после лечения сохраняют исходную классификацию очагов как целевых и нецелевых очагов и документируют очаги и описывают соответствующим способом в течение периода времени (например, регистрируют в том же порядке в исходных документах и eCRF). Для длительного исследования все измеряемые и неизмеряемые очаги необходимо оценивать одним и тем же способом как на исходном уровне (например, получение изображений у индивидуумов необходимо проводить на одном и том же МРТ-сканере или по меньшей мере с одинаковой величиной магнитного поля), чтобы уменьшить трудности интерпретирования изменений. При каждой оценке измеряют целевые очаги и вычисляют SPD. Качественно оценивают нецелевые очаги и отдельно документируют новые очаги при наличии. При каждой оценке для целевых очагов, нецелевых очагов и нового очага определяют ответ в определенный момент времени. Прогрессирование опухоли можно устанавливать, даже если оценивают подгруппу очагов. Однако если не наблюдают прогрессирования, объективный статус (стабильное заболевание, PR или CR) можно определять только, когда оценивают все очаги.

Оценки подтверждения для всех ответов в определенные моменты времени CR и PR проводят в соответствии со следующей оценкой по плану, но подтверждение можно не получать, если интервал между сканированиями составляет <28 суток. Лучший ответ, включающий требуемые параметры подтверждения, получают из серии из определенных моментов времени.

В определенных вариантах осуществления лечение солидной опухоли (например, печеночно-клеточной карциномы) можно оценивать по ингибированию фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в циркулирующей крови, и/или в опухолевых клетках, и/или биопсиях кожи, или биопсиях/аспиратах опухоли до, во время и/или после лечения ингибитором TOR-киназы. Например, ингибирование фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ оценивают в В-клетках, Т-клетках и/или моноцитах. В других вариантах осуществления лечение солидной опухоли (например, печеночно-клеточной карциномы,) можно оценивать по ингибированию активности ДНК-зависимой протеинкиназы (ДНК-ПК) в образцах кожи и/или биопсиях/аспиратах опухоли, таким образом, как посредством оценки количества S2056 фосфоДНК-ПК в качестве биомаркера путей повреждения ДНК, до, во время и/или после лечения ингибитором TOR-киназы. В одном из вариантов осуществления образец кожи облучают УФ-излучением. В высшей степени полное ингибирование обозначают в настоящем описании как профилактику или химиопрофилактику. В этом контексте термин "профилактика" включает предотвращение появления клинически очевидной опухоли в целом или предотвращение появления доклинической очевидной стадии солидной опухоли. Также предполагают, что в это определение входит предотвращение трансформации в злокачественные клетки или блокирование или обратное прогрессирование предопухолевых клеток в злокачественные клетки. Это включает профилактическое лечение тех, кто подвергается риску развития солидной опухоли (например, печеночно-клеточной карциномы).

#### 4.2. Краткое описание чертежей

На фиг. 8 проиллюстрированы эффекты соединения 1 на пролиферацию линий клеток с различной чувствительностью к рапамицину.

На фиг. 17 проиллюстрирована эффективность соединения 1 на модели ортотопической трансплантации печени Нер3В2.1-7.

На фиг. 18 проиллюстрирован эффект соединения 1 на размер опухоли на модели ортотопической трансплантации печени Нер3В2.1-7.

На фиг. 21 проиллюстрированы исходные характеристики индивидуумов группы А.

На фиг. 22 проиллюстрирована схема ускоренного (1+5) повышения дозы часть А и определение DLT.

На фиг. 23 проиллюстрированы наиболее частые побочные эффекты, связанные с соединением 1, (общая частота возникновения >20%) и все связанные события с 3/4 степенью (N=28).

На фиг. 24 проиллюстрированы ассоциированные с гипергликемией повышения уровней инсулина и С-пептида.

На фиг. 25 проиллюстрировано средние ( $\pm$ SD) равновесные концентрации в плазме для соединения 1 на 15 сутки у являющихся человеком индивидуумов.

На фиг. 26 проиллюстрировано дозозависимое ингибирование сигнального каскада TOR в крови являющихся человеком индивидуумов.

На фиг. 28 проиллюстрированы ответы целевых очагов (n=19; 9 индивидуумов без повторного определения стадии (7 досрочно отстраненных/PD; 1 несоответствующий требованиям; 1 с миеломой)).

На фиг. 29 проиллюстрированы уровень дозирования, продолжительность лечения и лучший общий ответ (n=27\*).

#### 4.3. Ингибиторы tor-киназы

Соединения, предоставленные в настоящем описании, как правило, обозначают как "ингибитор(ы) TOR-киназы". В конкретном варианте осуществления ингибиторы TOR-киназы включают 7-(6-(2-

гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пирозин-2(1H)-он или его фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры.

#### 4.4. Способы получения ингибиторов TOR-киназы

Ингибиторы TOR-киназы можно получать стандартным, хорошо известным способом синтеза, см., например, March, J. *Advanced Organic Chemistry; Reactions Mechanisms, and Structure*, 4th ed., 1992. Таким образом, исходные вещества, пригодные для получения соединений формулы (III) и промежуточных соединений являются коммерчески доступными, или их можно получать из коммерчески доступных веществ способами синтеза и с использованием синтетических реагентов.

Конкретные способы получения соединений формулы (I) описаны в патенте США № 7981893, опубликованном 19 июля 2011 г., полностью включенном в настоящее описание посредством ссылки. Конкретные способы получения соединений формулы (II) описаны в патенте США № 7968556, опубликованном 28 июня 2011 г., полностью включенном в настоящее описание посредством ссылки. Конкретные способы получения соединений формулы (III) и (IV) описаны в публикации США № 2010/0216781, зарегистрированной 26 октября 2009 г., и публикации США № 2011/0137028, зарегистрированной 25 октября 2010 г., полностью включенных в настоящее описание посредством ссылки.

#### 4.5. Способы применения

В настоящем описании предоставлены способы лечения или профилактики солидной опухоли, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью, где солидная опухоль представляет собой печеночно-клеточную карциному и где солидная опухоль является устойчивой к рапамицину.

В настоящем описании предоставлены способы получения критериев оценки ответа солидных опухолей (RECIST 1.1) полного ответа, частичного ответа или стабильного заболевания у пациента, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью, такой как солидная опухоль на поздней стадии. В другом варианте осуществления в настоящем описании предоставлены способы повышения коэффициента выживаемости без прогрессирования заболевания, как определено по оценкам Каплана-Мейера.

В настоящем описании предоставлены способы профилактики или замедления развития критериев оценки ответа солидных опухолей (RECIST 1.1) прогрессирующего заболевания у пациента, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью, такой как солидная опухоль на поздней стадии. В одном из вариантов осуществления профилактика или замедление прогрессирующего заболевания характеризуется или ее обеспечивают путем изменения общего размера целевых очагов, например, от -30 до +20% по сравнению с состоянием до лечения. В другом варианте осуществления изменение размера целевых очагов представляет собой уменьшение общего размера более 30%, например более 50% уменьшение размера целевого очага по сравнению с состоянием до лечения. В другом варианте осуществления профилактика характеризуется, или ее обеспечивают путем уменьшения размера или замедления прогрессирования нецелевых очагов по сравнению с состоянием до лечения. В одном из вариантов осуществления профилактику обеспечивают, или она характеризуется уменьшением числа целевых очагов по сравнению с состоянием до лечения. В другом варианте осуществления профилактику обеспечивают, или она характеризуется уменьшением числа или характерных особенностей нецелевых очагов по сравнению с состоянием до лечения. В одном из вариантов осуществления профилактику обеспечивают, или она характеризуется отсутствием или исчезновением целевых очагов по сравнению с состоянием до лечения. В другом варианте осуществления профилактику обеспечивают, или она характеризуется отсутствием или исчезновением нецелевых очагов по сравнению с состоянием до лечения. В другом варианте осуществления профилактику обеспечивают, или она характеризуется предотвращением появления новых очагов по сравнению с состоянием до лечения. В еще одном варианте осуществления профилактику обеспечивают, или она характеризуется предотвращением появления клинических признаков или симптомов прогрессирования заболевания по сравнению с состоянием до лечения, таких как связанная со злокачественной опухолью кахексия или усиление боли.

В настоящем описании предоставлены способы уменьшения размера целевых очагов у пациента по сравнению с состоянием до лечения, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью, такой как солидная опухоль на поздней стадии.

В настоящем описании предоставлены способы уменьшения размера нецелевого очага у пациента по сравнению с состоянием до лечения, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью, такой как солидная опухоль на поздней стадии.

В настоящем описании предоставлены способы обеспечения уменьшения числа целевых очагов у пациента по сравнению с состоянием до лечения, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью, такой как солидная опухоль на поздней стадии.

В настоящем описании предоставлены способы обеспечения уменьшения числа нецелевых очагов у пациента по сравнению с состоянием до лечения, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью, такой как солидная опухоль на поздней стадии.

ней стадии.

В настоящем описании предоставлены способы обеспечения отсутствия всех целевых очагов у пациента, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью, такой как солидная опухоль на поздней стадии.

В настоящем описании предоставлены способы обеспечения отсутствия всех нецелевых очагов у пациента, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью, такой как солидная опухоль на поздней стадии.

В настоящем описании предоставлены способы лечения солидной опухоли, такой как солидная опухоль на поздней стадии, где способы включают введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью, такой как солидная опухоль на поздней стадии, где лечение приводит к полному ответу, частичному ответу или стабильному заболеванию, как определено по критериям оценки ответа солидных опухолей (RECIST 1.1).

В настоящем описании предоставлены способы лечения солидной опухоли, такой как солидная опухоль на поздней стадии, где способы включают введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью, такой как солидная опухоль на поздней стадии, где лечение приводит к уменьшению размера целевого очага, уменьшению размера нецелевого очага и/или отсутствию новых целевых и/или нецелевых очагов по сравнению с состоянием до лечения.

В настоящем описании предоставлены способы лечения солидной опухоли, такой как солидная опухоль на поздней стадии, где способы включают введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью, такой как солидная опухоль на поздней стадии, где лечение приводит к предотвращению или замедлению клинического прогрессирования, такого как связанная со злокачественной опухолью какексия или усиление боли.

В настоящем описании предоставлены способы индукции терапевтического ответа у пациента, характеризующегося по международным экспертным критериям (IWC) для NHL (см. Cheson B.D., Pfistner B., Juweid, M.E. et al., Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 2007, (25) 579-586), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему неходжкинской лимфомой. В другом варианте осуществления в настоящем описании предоставлены способы обеспечения полной ремиссии, частичной ремиссии или стабильного заболевания у пациента, как определяют по международным экспертным критериям (IWC) для NHL, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему неходжкинской лимфомой. В другом варианте осуществления в настоящем описании предоставлены способы обеспечения увеличения общей выживаемости, выживаемости без прогрессирования заболевания, бессобытийной выживаемости, периода времени до прогрессирования, выживаемости без заболевания или выживаемости без лимфомы, как определяют по международным экспертным критериям (IWC) для NHL, у пациента, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему неходжкинской лимфомой.

В настоящем описании предоставлены способы индукции терапевтического ответа у пациента, оцениваемого с использованием международных единых критериев ответа для множественной миеломы (IURC) (см. Durie B.G.M., Harousseau J-L., Miguel J.S. et al., International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*, 2006, (10) 10: 1-7), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему множественной миеломой. В другом варианте осуществления в настоящем описании предоставлены способы обеспечения строгого полного ответа, полного ответа или очень хорошего частичного ответа у пациента, как определяют по международным единым критериям ответа для множественной миеломы (IURC), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему множественной миеломой. В другом варианте осуществления в настоящем описании предоставлены способы обеспечения увеличения общей выживаемости, выживаемости без прогрессирования, бессобытийной выживаемости, периода времени до прогрессирования или выживаемости без заболевания у пациента, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему множественной миеломой.

В настоящем описании предоставлены способы индукции терапевтического ответа у пациента, оцениваемого с использованием оценки ответа для нейроонкологии (RANO) рабочей группы по GBM (см. Wen P., Macdonald D.R., Reardon D.A. et al., Updated response assessment criteria for highgrade gliomas: Response assessment in neuro-oncology working group. *J. Clin. Oncol.*, 2010, 28: 1963-1972), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему мультиформной глиобластомой. В одном из вариантов осуществления RANO используют для определения соотношения индивидуумов без прогрессирования через 6 месяцев с суток 1 относительно индивидуумов, у которых оценивают эффективность в типе GBM.

В настоящем описании предоставлены способы улучшения общего состояния пациента согласно Восточной объединенной онкологической группе (ECOG), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему опухолью, такой как солидная опухоль на поздней стадии.

В настоящем описании предоставлены способы индукции терапевтического ответа у пациента, оце-

ниваемого по результату позитронно-эмиссионной томографии (ПЕТ), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему опухолью, такой как солидная опухоль на поздней стадии. В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены способы лечения солидной опухоли, такой как солидная опухоль на поздней стадии, где способы включают введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью, такой как солидная опухоль на поздней стадии, где лечение приводит к снижению метаболической активности опухоли, например, как измеряют по визуализации ПЕТ.

В настоящем описании предоставлены способы индукции терапевтического ответа, оцениваемого по уменьшению связанных с карциноидным синдромом симптомов, таких как диарея и/или гиперемия, и/или снижения уровня маркеров эндокринных гормонов, таких как хромогранин, гастрин, серотонин и/или глюкагон.

В настоящем описании предоставлены способы ингибирования фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ у пациента, страдающего солидной опухолью (например, нейроэндокринной опухолью, немелкоклеточным раком легких, мультиформной глиобластомой, печеночно-клеточной карциномой, раком молочной железы, колоректальным раком, раком слюнных желез, раком поджелудочной железы, аденокистозным раком или злокачественной опухолью надпочечников), неходжкинской лимфомой или множественной миеломой, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы указанному пациенту. В другом варианте осуществления солидная опухоль представляет собой рак пищевода, злокачественную опухоль почки, лейомиосаркому или параганглиому. В некоторых таких вариантах осуществления ингибирование фосфорилирования оценивают в биологическом образце пациента, таком как в циркулирующей крови и/или клетках опухоли, биопсиях кожи и/или биопсиях или аспиратах опухоли. В таких вариантах осуществления количество ингибирования фосфорилирования оценивают посредством сравнения количества фосфо-S6RP, фосфо-4E-BP1 и/или фосфо-АКТ до и после введения ингибитора TOR-киназы. В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены способы измерения ингибирования фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 или АКТ у пациента, страдающего солидной опухолью (например, печеночно-клеточной карциномой), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы указанному пациенту, измерение количества фосфорилированных S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ у указанного пациента и сравнение указанного количества фосфорилированных S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ с количеством у указанного пациента до введения эффективного количества ингибитора TOR-киназы. В некоторых вариантах осуществления ингибирование фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ оценивают в В-клетках, Т-клетках и/или моноцитах.

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены способы ингибирования фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в биологическом образце пациента, страдающего солидной опухолью (например, печеночно-клеточной карциномой), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы указанному пациенту и сравнение количества фосфорилированных S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в биологическом образце пациента, получаемом до и после введения указанного ингибитора TOR-киназы, где меньшее количество фосфорилированных S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в указанном биологическом образце, получаемом после введения указанного ингибитора TOR-киназы, относительно количества фосфорилированных S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в указанном биологическом образце, получаемом до введения указанного ингибитора TOR-киназы, свидетельствует об ингибировании. В некоторых вариантах осуществления ингибирование фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ оценивают в В-клетках, Т-клетках и/или моноцитах.

В одном из вариантов осуществления в настоящем описании предоставлены способы ингибирования активности ДНК-зависимой протеинкиназы (ДНК-ПК) у пациента, страдающего солидной опухолью (например, печеночно-клеточной карциномой), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы указанному пациенту. В другом варианте осуществления солидная опухоль представляет собой рак пищевода, злокачественную опухоль почки, лейомиосаркому или параганглиому. В некоторых вариантах осуществления ингибирование ДНК-ПК оценивают в коже пациента, страдающего солидной опухолью (например, печеночно-клеточной карциномой), в одном из примеров в облучаемом УФ-излучением образце кожи указанного пациента. В другом варианте осуществления ингибирование ДНК-ПК оценивают в биопсии или аспирате опухоли пациента, страдающего солидной опухолью (например, печеночно-клеточной карциномой). В одном из вариантов осуществления ингибирование оценивают посредством измерения количества фосфорилированной ДНК-ПК S2056 (также известной как фосфоДНК-ПК S2056) до и после введения ингибитора TOR-киназы. В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены способы измерения ингибирования фосфорилирования ДНК-ПК S2056 в образце кожи пациента, страдающего солидной опухолью (например, печеночно-клеточной карциномой), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы указанному пациенту, измерение количества фосфорилированной ДНК-ПК S2056, содержащейся в образце кожи, и сравнение указанного количества фосфорилированной ДНК-ПК S2056 с количеством в образце кожи у указанного пациента до введения эффективного количества ингибитора TOR-киназы. В одном из вариантов осуществления образец кожи облучают УФ-излучением.

В настоящем описании предоставлены способы ингибирования активности ДНК-зависимой проте-

инкиназы (ДНК-РК) в образце кожи пациента, страдающего солидной опухолью (например, печеночно-клеточной карциномой), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы указанному пациенту и сравнение количества фосфорилированной ДНК-РК в биологическом образце пациента, получаемом до и после введения указанного ингибитора TOR-киназы, где меньшее количество фосфорилированной ДНК-РК в указанном биологическом образце, получаемом после введения указанного ингибитора TOR-киназы, относительно количества фосфорилированной ДНК-РК в указанном биологическом образце, получаемом до введения указанного ингибитора TOR-киназы, свидетельствует об ингибировании. Ингибитор TOR-киназы можно комбинировать с лучевой терапией или хирургической операцией. В определенных вариантах ингибитор TOR-киназы вводят пациенту, который подвергается лучевой терапии, ранее перенес лучевую терапию или будет получать лучевую терапию. В определенных вариантах ингибитор TOR-киназы вводят пациенту, который перенес хирургическую операцию по удалению опухоли.

Кроме того, в настоящем описании раскрыты способы лечения пациентов, которые ранее получали лечение солидной опухоли (например, печеночно-клеточной карциномы), но не отвечали на стандартные виды терапии, а также тех, кто ранее не получал лечение. Кроме того, в настоящем описании раскрыты способы лечения пациентов, которые подвергались хирургической операции для лечения рассматриваемого состояния, а также тех, кто не подвергался хирургической операции. Вследствие того, что пациенты с солидной опухолью (например, печеночно-клеточной карциномой), имеют гетерогенные клинические проявления и различные клинические исходы, проводимое для пациента лечение может изменяться в зависимости от прогноза у него/нее, квалифицированный клиницист способен без излишнего экспериментирования легко определять конкретные вспомогательные средства, типы хирургических операций и типы нелекарственных средств на основе стандартной терапии, которые можно эффективно использовать для лечения индивидуального пациента с солидной опухолью (например, печеночно-клеточной карциномой). В определенных вариантах способы, предоставленные в настоящем описании, включают использование набора, содержащего ингибитор TOR-киназы, предоставленный в настоящем описании.

В настоящем описании предоставлены способы лечения или профилактики солидной опухоли (например, печеночно-клеточной карциномой), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью (например, печеночно-клеточной карциномой), где указанный ингибитор TOR-киназы является компонентом набора, предоставленного в настоящем описании. В настоящем описании предоставлены способы мониторинга ответа на лечение ингибитором TOR-киназы пациента, страдающего солидной опухолью (например, печеночно-клеточной карциномой), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, страдающему солидной опухолью (например, печеночно-клеточной карциномой), и оценку ингибирования прогрессирования заболевания, ингибирования роста опухоли, уменьшения первичной и/или вторичной опухоли(ей), ослабления связанных с опухолью симптомов, улучшения качества жизни, ингибирования секретируемых опухолью факторов (включая секретируемые опухолью гормоны, такие как гормоны, которые способствуют карциноидному синдрому), замедленного появления первичной и/или вторичной опухоли(ей), замедленного развития первичной и/или вторичной опухоли(ей), сниженной частоты появления первичной и/или вторичной опухоли(ей), уменьшенной или сниженной тяжести вторичных проявлений заболевания, заблокированного роста опухоли и/или регрессия опухолей, ингибирования фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ или ингибирования активности ДНК-зависимой протеинкиназы (ДНК-РК), где указанный ингибитор TOR-киназы и средства оценки ответа на лечение представляют собой компоненты набора, предоставленного в настоящем описании. Ингибирование фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ можно измерять в крови, коже, опухоли и/или циркулирующих в крови опухолевых клетках (СТС) различными способами, включая проточную цитометрию, ELISA, иммуногистохимию (ИНС), иммунофлуоресценцию (IF) с использованием специфических к фосфорилированию антител. Ингибирование активности ДНК-РК можно измерять в крови, коже и/или циркулирующих в крови опухолевых клетках (СТС) посредством мониторинга фосфорилирования субстратов ДНК-РК, таких как сама ДНК-РК и XRCC4. Ингибирование активности ДНК-РК также можно измерять посредством мониторинга накопления поврежденных двухцепочечной ДНК в тканях и/или клетках, таких как указанные выше ткани и клетки.

В дополнительных вариантах осуществления солидная опухоль (например, печеночно-клеточная карцинома), представляет собой такую, при которой активируется сигнальный путь PI3K/mTOR.

В другом варианте осуществления солидная опухоль (рак пищевода, злокачественная опухоль почки, лейомиосаркома или параганглиома) представляет собой такую, при которой активируется сигнальный путь PI3K/mTOR. В определенных вариантах осуществления солидная опухоль (например, печеночно-клеточная карцинома), представляет собой такую, при которой активируется сигнальный путь PI3K/mTOR вследствие потери PTEN, мутации IK3CA или сверхэкспрессии EGFR, или их сочетания. В другом варианте осуществления солидная опухоль представляет собой такую, при которой активируется сигнальный путь PI3K/mTOR вследствие потери PTEN, мутации PIK3CA или сверхэкспрессии EGFR, или их сочетания.

#### 4.6. Фармацевтические композиции и пути введения

В настоящем описании раскрыты композиции, содержащие эффективное количество ингибитора TOR-киназы, и композиции, содержащие эффективное количество ингибитора TOR-киназы и фармацевтически приемлемого носителя или наполнителя. В некоторых вариантах осуществления описываемая в настоящем описании фармацевтическая композиция является подходящей для перорального, парентерального, мукозального, трансдермального или местного введения.

Ингибиторы TOR-киназы можно вводить пациенту перорально или парентерально в общепринятой форме препаратов, такой как капсулы, микрокапсулы, таблетки, гранулы, порошок, пастилки, пилюли, суппозитории, инъекции, суспензии и сиропы. Подходящие составы можно получать общепринято применяемыми способами с использованием общепринятых органических или неорганических добавок, таких как эксципиент (например, сахароза, крахмал, маннит, сорбит, лактоза, глюкоза, целлюлоза, тальк, фосфат кальция или карбонат кальция), связывающее средство (например, целлюлоза, метилцеллюлоза, гидроксиметилцеллюлоза, полипропилпирролидон, поливинилпирролидон, желатин, гуммиарабик, полиэтиленгликоль, сахароза или крахмал), дезинтегрирующее средство (например, крахмал, карбоксиметилцеллюлоза, гидроксипропилкрахмал, гидроксипропилцеллюлоза с низкой степенью замещения, бикарбонат натрия, фосфат кальция или цитрат кальция), смазочное средство (например, стеарат магния, легкая безводная кремниевая кислота, тальк или лаурилсульфат натрия), ароматизатор (например, лимонная кислота, ментол, глицин или порошок апельсиновой цедры), консервант (т.е. бензоат натрия, бисульфит натрия, метилпарабен или пропилпарабен), стабилизатор (например, лимонная кислота, цитрат натрия или уксусная кислота), суспендирующее средство (например, метилцеллюлоза, поливинилпирролидон или стеарат алюминия), диспергирующее средство (например, гидроксипропилметилцеллюлоза), разбавитель (например, вода) и базисный воск (например, масло какао, белый вазелин или полиэтиленгликоль). Эффективное количество ингибитора TOR-киназы в фармацевтической композиции может находиться на уровне, который оказывает желаемое действие, например, приблизительно от 0,005 мг/кг массы тела пациента приблизительно до 10 мг/кг массы тела пациента в единице дозирования для перорального и парентерального введения.

Доза ингибитора TOR-киназы, которую необходимо вводить пациенту, достаточно широко варьируется и может зависеть от решения практикующего врача. Как правило, ингибиторы TOR-киназы можно вводить пациенту от одного до четырех раз в сутки в дозе приблизительно от 0,005 мг/кг массы тела пациента приблизительно до 10 мг/кг массы тела пациента, но указанное выше дозирование можно соответствующим образом изменять в зависимости от возраста, массы тела и медицинского состояния пациента и типа введения. В одном из вариантов осуществления доза составляет приблизительно от 0,01 мг/кг массы тела пациента приблизительно до 5 мг/кг массы тела пациента, приблизительно от 0,05 мг/кг массы тела пациента приблизительно до 1 мг/кг массы тела пациента, приблизительно от 0,1 мг/кг массы тела пациента приблизительно до 0,75 мг/кг массы тела пациента или приблизительно от 0,25 мг/кг массы тела пациента приблизительно до 0,5 мг/кг массы тела пациента. В одном из вариантов осуществления одну дозу вводят раз в сутки. В другом варианте осуществления две дозы вводят раз в сутки. В любом из данных случаев вводимое количество ингибитора TOR-киназы зависит от таких факторов, как растворимость активного компонента, используемого состава и пути введения.

В другом варианте осуществления в настоящем описании предоставлены способы лечения или профилактики заболевания или нарушения, включающие введение приблизительно от 0,375 мг/сутки приблизительно до 750 мг/сутки, приблизительно от 0,75 мг/сутки приблизительно до 375 мг/сутки, приблизительно от 3,75 мг/сутки приблизительно до 75 мг/сутки, приблизительно от 7,5 мг/сутки приблизительно до 55 мг/сутки или приблизительно от 18 мг/сутки приблизительно до 37 мг/сутки ингибитора TOR-киназы нуждающемуся в этом пациенту. В конкретном варианте описываемые в настоящем описании осуществления способы включают введение 15 мг/сутки, 30 мг/сутки, 45 мг/сутки или 60 мг/сутки ингибитора TOR-киназы нуждающемуся в этом пациенту. В другом варианте осуществления описываемые в настоящем описании способы включают введение 0,5 мг/сутки, 1 мг/сутки, 2 мг/сутки, 4 мг/сутки, 8 мг/сутки, 16 мг/сутки, 20 мг/сутки, 25 мг/сутки, 30 мг/сутки или 40 мг/сутки ингибитора TOR-киназы нуждающемуся в этом пациенту.

В другом варианте осуществления в настоящем описании предоставлены способы лечения или профилактики заболевания или нарушения, включающие введение приблизительно от 0,1 мг/сутки приблизительно до 1200 мг/сутки, приблизительно от 1 мг/сутки приблизительно до 100 мг/сутки, приблизительно от 10 мг/сутки приблизительно до 1200 мг/сутки, приблизительно от 10 мг/сутки приблизительно до 100 мг/сутки, приблизительно от 100 мг/сутки приблизительно до 1200 мг/сутки, приблизительно от 400 мг/сутки приблизительно до 1200 мг/сутки, приблизительно от 600 мг/сутки приблизительно до 1200 мг/сутки, приблизительно от 400 мг/сутки приблизительно до 800 мг/сутки или приблизительно от 600 мг/сутки приблизительно до 800 мг/сутки ингибитора TOR-киназы нуждающемуся в этом пациенту. В конкретном варианте осуществления описываемые в настоящем описании способы включают введение 0,1 мг/сутки, 0,5, 1, 10, 15, 20, 30, 40, 45, 50, 60, 75, 100, 125, 150, 200, 250, 300, 400, 600 или 800 мг/сутки ингибитора TOR-киназы нуждающемуся в этом пациенту.

В другом варианте осуществления в настоящем описании предоставлены стандартные лекарствен-

ные формы, которые содержат приблизительно от 0,1 мг приблизительно до 2000 мг, приблизительно от 1 до 200 мг, приблизительно от 35 приблизительно до 1400 мг, приблизительно от 125 приблизительно до 1000 мг, приблизительно от 250 приблизительно до 1000 мг или приблизительно от 500 приблизительно до 1000 мг ингибитора TOR-киназы.

В конкретном варианте осуществления в настоящем описании предоставлены стандартные лекарственные формы, содержащие приблизительно 0,1, 0,25, 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 50, 60, 75, 100, 125, 150, 200, 250, 300, 400, 600 или 800 мг ингибитора TOR-киназы.

В другом варианте осуществления в настоящем описании предоставлены стандартные лекарственные формы, которые содержат 0,1, 0,25, 0,5, 1, 2,5, 5, 10, 15, 20, 30, 35, 50, 70, 100, 125, 140, 175, 200, 250, 280, 350, 500, 560, 700, 750, 1000 или 1400 мг ингибитора TOR-киназы. В конкретном варианте осуществления в настоящем описании предоставлены стандартные лекарственные формы, которые содержат 10, 15, 20, 30, 45 или 60 мг ингибитора TOR-киназы.

Ингибитор TOR-киназы можно вводить один, два, три, четыре или более раз в сутки.

Ингибитор TOR-киназы можно вводить перорально из соображений удобства. В одном из вариантов осуществления при пероральном введении ингибитор TOR-киназы вводят во время приема пищи и с водой. В другом варианте осуществления ингибитор TOR-киназы диспергируют в воде или соке (например, яблочном соке или апельсиновом соке) и вводят перорально в виде суспензии. В другом варианте осуществления при пероральном введении ингибитор TOR-киназы вводят натошак.

Ингибитор TOR-киназы также можно вводить интрадермально, внутримышечно, интраперитонеально, чрезкожно, внутривенно, подкожно, интраназально, эпидурально, сублингвально, интрацеребрально, внутривлагалищно, трансдермально, ректально, через слизистые оболочки, посредством ингаляции или местно на уши, нос, глаза или кожу. Способ введения остается на усмотрение практикующего врача и частично может зависеть от локализации медицинского состояния.

В одном из вариантов осуществления в настоящем описании предоставлены капсулы, содержащие ингибитор TOR-киназы без дополнительного носителя, эксципиента или наполнителя.

В другом варианте осуществления в настоящем описании предоставлены композиции, содержащие эффективное количество ингибитора TOR-киназы и фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель, где фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель могут содержать эксципиент, разбавитель или их смесь. В одном из вариантов осуществления композиция представляет собой фармацевтическую композицию.

Композиция может находиться в форме таблеток, жевательных таблеток, капсул, растворов, парентеральных растворов, пастилок, суппозиторий и суспензий и т.п. Композиции можно формулировать так, чтобы они содержали суточную дозу или подходящую часть суточной дозы в единице дозирования, которая может представлять собой одну таблетку или капсулу, или подходящий объем жидкости. В одном из вариантов осуществления растворы получают из водорастворимой соли, такой как гидрохлоридная соль. Как правило, все композиции получают известными в фармацевтической химии способами. Капсулы можно получать смешиванием ингибитора TOR-киназы с подходящим носителем или разбавителем и внесением надлежащего количества смеси в капсулы. Общеизвестные носители и разбавители включают, но не ограничиваются ими, инертные порошкообразные вещества, такие как крахмал многих различных типов, порошкообразная целлюлоза, в частности кристаллическая и микрокристаллическая целлюлоза, сахара, такие как фруктоза, маннит и сахароза, типы зерновой муки и аналогичные пищевые порошки.

Таблетки можно получать прямым прессованием, влажным гранулированием или сухим гранулированием. Их составы, как правило, содержат разбавители, связывающие средства, смазочные средства и дезинтегрирующие средства, а также соединение. Характерные разбавители включают, например, различные типы крахмала, лактозу, маннит, каолин, фосфат кальция или сульфат, неорганические соли, такие как хлорид натрия и сахарную пудру. Также пригодными являются порошкообразные производные целлюлозы. В одном из вариантов осуществления фармацевтическая композиция не содержит лактозу. Характерные связывающие средства для таблеток представляют собой вещества, такие как крахмал, желатин и сахара, такие как лактоза, фруктоза, глюкоза и т.п. Также подходящими являются природные и синтетические камеди, включая гуммиарабик, альгинаты, метилцеллюлозу, поливинилпирролидин и т.п. Полиэтиленгликоль, этилцеллюлоза и воски также могут служить в качестве связывающих средств.

Смазочное средство может являться необходимым для формулирования таблетки для предотвращения прилипания в прессе таблетки и пуансонов. Смазочное средство можно выбирать из таких способствующих скольжению твердых веществ, как тальк, стеарат магния и кальция, стеариновая кислота и гидрогенизированные растительные масла. Дезинтегрирующие средства для таблеток представляют собой вещества, которые увеличиваются в объеме при намокании с разламыванием таблетки и выделением соединения. Они включают крахмалы, глины, различные типы целлюлозы, альгины и камеди. Более конкретно можно использовать, например, кукурузный и картофельный крахмалы метилцеллюлозу, агар, бентонит, древесную целлюлозу, порошкообразную природную губку, катионообменные смолы, альгиновую кислоту, гуаровую камедь, цитрусовую пульпу и карбоксиметилцеллюлозу, а также лаурилсульфат натрия. Таблетки можно покрывать сахаром в качестве вкусоароматической добавки и уплотнителя

или образующими пленку защитными средствами для модификации свойств растворения таблетки. Композиции также можно формулировать в виде жевательных таблеток, например, с использованием в составе веществ, таких как маннит.

Когда желательно вводить ингибитор TOR-киназы в виде суппозитория, можно использовать общепринятые основы. Масло какао представляет собой общепринятую основу для суппозитория, которую можно модифицировать путем добавления восков для небольшого повышения ее температуры плавления. Широко используют смешивающиеся с водой основы для суппозитория, в частности, содержащие полиэтиленгликоли различных молекулярных масс.

Действие ингибитора TOR-киназы можно замедлять или пролонгировать посредством подходящего состава. Например, можно получать медленно растворимую гранулу ингибитора TOR-киназы и вводить в таблетку или капсулу или в виде имплантируемого устройства с замедленным высвобождением. Способ также включает получение гранул с несколькими различными скоростями растворения и наполнения капсул смесью осадков. Таблетки или капсулы можно покрывать пленкой, которая препятствует растворению в течение предопределенного периода времени. Даже парентеральные препараты можно получать с длительным действием посредством растворения или суспендирования ингибитора TOR-киназы в масляных или эмульгированных носителях, которые обеспечивают его медленное распределение в сыворотке.

#### 4.7. Наборы

В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены наборы, содержащие ингибитор TOR-киназы. В конкретных вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены наборы, содержащие стандартную лекарственную форму, содержащую ингибитор TOR-киназы в герметичном контейнере, где стандартная лекарственная форма содержит приблизительно от 1 мг приблизительно до 100 мг ингибитора TOR-киназы. В конкретных вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены наборы, содержащие стандартную лекарственную форму, содержащую ингибитор TOR-киназы в герметичном контейнере, где стандартная лекарственная форма содержит приблизительно 5 мг, приблизительно 20 мг или приблизительно 50 мг ингибитора TOR-киназы.

В других вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены наборы, содержащие ингибитор TOR-киназы и средства для мониторинга ответа у пациента на введение указанного ингибитора TOR-киназы. В определенных вариантах осуществления пациент страдает солидной опухолью, неходжкинской лимфомой или множественной миеломой. В конкретных вариантах осуществления измеряемые ответы у пациента представляют собой ингибирование прогрессирования заболевания, ингибирование роста опухоли, уменьшение первичной и/или вторичной опухоли(ей), ослабление связанных с опухолью симптомов, улучшение качества жизни, ингибирование секретируемых опухолью факторов (включая секретируемые опухолью гормоны, такие как гормоны, которые способствуют карциноидному синдрому), замедленное появление первичной и/или вторичной опухоли(ей), замедленное развитие первичной и/или вторичной опухоли(ей), сниженную частоту появления первичной и/или вторичной опухоли(ей), замедленную или сниженную тяжесть вторичных проявлений заболевания, блокированный рост опухоли и/или регрессию опухолей.

В других вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены наборы, содержащие ингибитор TOR-киназы и средства для мониторинга ответа у пациента на введение указанного ингибитора TOR-киназы, где указанный ответ представляет собой критерии оценки ответа солидных опухолей (RECIST 1.1), международные экспертные критерии (IWC) для NHL, международные единые критерии ответа для множественной миеломы (IURC), оценку общего состояния согласно Восточной объединенной онкологической группе (ECOG) или оценку ответа для нейроонкологии (RANO) рабочей группы по GBM.

В других вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены наборы, содержащие ингибитор TOR-киназы и средства для измерения количества ингибирования фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или AKT у пациента. В определенных вариантах осуществления наборы содержат средства для измерения ингибирования фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или AKT в циркулирующей крови или опухолевых клетках и/или биопсиях кожи, или биопсиях/аспиратах опухоли пациента. В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены наборы, содержащие ингибитор TOR-киназы и средства для мониторинга количества ингибирования фосфорилирования, как оценивают посредством сравнения количества фосфо-S6RP, фосфо-4E-BP1 и/или фосфо-AKT до, во время и/или после введения ингибитора TOR-киназы. В определенных вариантах осуществления пациент страдает солидной опухолью (например, печеночно-клеточной карциномой). В других вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены наборы, содержащие ингибитор TOR-киназы и средства для измерения количества ингибирования активности ДНК-зависимой протеинкиназы (ДНК-ПК) у пациента. В определенных вариантах осуществления наборы содержат средства для измерения количества ингибирования активности ДНК-зависимой протеинкиназы (ДНК-ПК) в образце кожи и/или биопсии/аспирате опухоли пациента. В одном из вариантов осуществления наборы содержат средства для измерения количества фосфоДНК-ПК S2056 в образце кожи и/или биопсии/аспирате опухоли пациента. В одном из вариантов осуществления образец кожи облучают УФ-излучением. В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены наборы, содержащие ингибитор TOR-киназы и средства для

измерения количества ингибирования активности ДНК-зависимой протеинкиназы (ДНК-ПК) до, во время и/или после введения ингибитора TOR-киназы. В определенных вариантах осуществления в настоящем описании предоставлены наборы, содержащие ингибитор TOR-киназы и средства для измерения количества фосфорилированной ДНК-ПК S2056 до, во время и/или после введения ингибитора TOR-киназы. В определенных вариантах осуществления пациент страдает солидной опухолью (например, печеночно-клеточная карцинома).

Ингибирование фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ можно измерять в крови, коже, опухоли и/или циркулирующих в крови опухолевых клетках (СТС) различными способами, включая точную цитометрию, ELISA, иммуногистохимию (ИНС) с использованием специфических к фосфорилированию антител. Ингибирование активности ДНК-ПК можно измерять в крови, коже и/или циркулирующих в крови опухолевых клетках (СТС) путем мониторинга фосфорилирования субстратов ДНК-ПК, таких как сама ДНК-ПК и XRCC4. Ингибирование активности ДНК-ПК также можно измерять путем мониторинга накопления повреждений двойной цепи ДНК в тканях и/или клетках, таких как указанные выше ткани и клетки.

В определенных вариантах осуществления предоставленные в настоящем описании наборы содержат количество ингибитора TOR-киназы, эффективное для лечения или профилактики солидной опухоли (например, печеночно-клеточной карциномы). В определенных вариантах осуществления предоставленные в настоящем описании наборы содержат ингибитор TOR-киназы с молекулярной формулой  $C_{16}H_{16}N_8O$ . В определенных вариантах осуществления предоставленные в настоящем описании наборы содержат соединение 1.

В определенных вариантах осуществления предоставленные в настоящем описании наборы дополнительно содержат инструкции по применению, такие как по введению ингибитора TOR-киназы и/или мониторингу ответа у пациента на введение ингибитора TOR-киназы.

## 5. Примеры

### 5.1. Биологические примеры

#### 5.1.1. Биохимические анализы

Анализ HTR-FRET mTOR.

Ниже приведен пример анализа, который можно использовать для определения активности ингибирования TOR-киназы тестируемого соединения. Ингибиторы TOR-киназы растворяли в DMSO и получали в виде 10 мМ исходных растворов, разбавляли соответствующим образом для экспериментов. Реагенты получали так, как указано ниже.

"Простой буфер TOR" (используемый для разбавления фракции TOR с высоким содержанием глицина): 10 мМ Tris pH 7,4, 100 мМ NaCl, 0,1% Tween-20, 1 мМ DTT. В этом буфере разбавляли mTOR от Invitrogen (кат. № PV4753) до анализируемой концентрации 0,200 мкг/мл.

Раствор АТФ/субстрат: 0,075 мМ АТФ, 12,5 мМ  $MnCl_2$ , 50 мМ HEPES, pH 7,4, 50 мМ  $\beta$ -GOP, 250 нМ микроцистин-LR, 0,25 мМ EDTA, 5 мМ DTT и 3,5 мкг/мл GST-p70S6.

Раствор реагента для детекции: 50 мМ HEPES, pH 7,4, 0,01% Triton X-100, 0,01% BSA, 0,1 мМ EDTA, 12,7 мкг/мл Cy5- $\alpha$ GST Amersham (кат. № PA92002V), 9 нг/мл  $\alpha$ -фосфо-p70S6 (Thr389) (Cell Signaling Mouse Monoclonal № 9206L), 627 нг/мл  $\alpha$ -mouse Lance Eu (Perkin Elmer кат. № AD0077).

К 20 мкл простого буфера mTOR добавляли 0,5 мкл тестируемого соединения в DMSO. Для инициации реакции добавляли 5 мкл раствора АТФ/субстрат к 20 мкл раствора простого буфера TOR (контроль) и к получаемому выше раствору соединения. Анализ останавливали через 60 мин добавлением 5 мкл 60 мМ раствора EDTA, затем добавляли 10 мкл раствора реагента для детекции и оставляли смесь осаждаться в течение по меньшей мере 2 ч перед анализом на микропланшетном спектрофотометре Perkin-Elmer Envision, настроенном для детекции LANCE Eu TR-FRET (возбуждение при 320 нм и испускание при 495/520 нм).

В анализе HTR-FRET mTOR тестировали ингибиторы TOR-киназы и было выявлено, что в нем они обладают активностью, где определенные соединения обладали в анализе  $IC_{50}$  менее 10 мкМ, где некоторые соединения обладают  $IC_{50}$  от 0,005 до 250 нМ, другие обладают  $IC_{50}$  от 250 до 500 нМ, другие обладают  $IC_{50}$  от 500 нМ до 1 мкМ, другие обладают  $IC_{50}$  от 1 до 10 мкМ.

Анализ ДНК-ПК. Анализы ДНК-ПК проводили способами, предоставляемыми в наборе Promega DNA-ПК assay (каталожный № V7870). Фермент ДНК-ПК приобретали от Promega (Promega кат. № V5811).

Выбранные TORKi обладают или предполагают, что они обладают,  $IC_{50}$  менее 10 мкМ в этом анализе, где некоторые TORKi обладают  $IC_{50}$  менее 1 мкМ, другие обладают  $IC_{50}$  менее 0,10 мкМ.

#### 5.1.2. Основанные на клетках анализы

Вещества и способы.

Линии клеток и культура клеток: линии клеток глиобластомы человека и рака легких приобретают от Американской коллекции типовых культур (АТСС) и поддерживают в RPMI 1640 плюс 10% телячьей сыворотки (ЭТС) или в рекомендуемой специальной среде для культивирования. Клетки немелкоклеточного рака легких могут включать следующие линии клеток: NCI-H460, NCI-H838, NCI-H1792, NCI-H520,

NCI-H1993, NCI-H1944, NCI-H1975, NCI-H1395, A549, NCI-H2122, NCI-H1703, NCI-H1299, NCI-H647, NCI-H358, SK-LU-1, NCI-H1734, NCI-H1693, NCI-H226, NCI-H23, NCI-H2030, NCI-H1755, Calu-6, Calu-1, SW1573, NCI-H2009, NCI-H441, HOP92, NCI-H2110, NCI-H727, NCI-H1568, Calu-3, NCI-H2228, NCI-H2444, NCI-H1563, NCI-H1650, NCI-H1437, NCI-H650, NCI-H1838, NCI-H2291, NCI-H28 и NCI-H596. Дополнительные линии клеток, на которых можно тестировать ингибиторы TOR-киназы, включают HT-3, HeLaSF, HeLa S3, SKG-IIIa, SiHa, MS751, BOKU, C-33-A, C-4-II, Ca-Ski, DoTc2-4510, ME-180, OMC-1, SW756 и TC-YIK.

Линии клеток гииобластомы, получаемые, например, от ATCC (например, клетки A-172, T98G, DBTRG-05MG, M059K, M059J, LN18, LN-229, TIME, G44 и U87 MG, U-118 MG, U-138 MG) можно конструировать известными в данной области способами таким образом, чтобы они экспрессировали мутацию EGFRvIII или сверхэкспрессировали EGFR. Линии клеток также можно конструировать, чтобы они экспрессировали EGFRvIII или сверхэкспрессировали EGFR и одновременно экспрессировали PTEN. Кроме того, линии клеток со сверхэкспрессией EGFR и мутацией EGFRvIII можно выводить из опухолей человека (образцов пациента). (См., например, A. Lai et al., *Cancer Res.*, 62:3335 (2002), J.J. Kelly et al., *Stem Cells*, 27(8): 1722 (2009), M.Y. Wang et al., *Cancer Res.*, 66:7864 (2006)).

Анализ ингибирования роста для линий HCC и NHL. Все линии клеток HCC и NHL поддерживали и тестировали в средах для культивирования, указанных в табл. 2 и 3. Плотность высевания для каждой линии клеток оптимизировали для обеспечения линейной зависимости анализа в 384-луночных планшетах.

Соединение 1 (7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он) растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO) с получением 10 мМ исходного раствора. Проводили серийное титрование с получением рабочего диапазона концентрации от 1,5 мкМ до 10 мМ. Для получения конечных концентраций от 1,5 нМ до 10 мкМ аликвоты вносили посредством звукового дозатора (EDC ATS-100) в пустой 384-луночный планшет. Соединение 1 вносили в планшет способом 10-точечного серийного разведения (3-кратное разбавление) в двух повторениях. Концентрацию DMSO сохраняли постоянной в виде конечной анализируемой концентрации 0,1% DMSO. Повторно получали планшеты для использования с различными линиями клеток и периодов тестирования. После повторного получения планшетов с соединением все планшеты герметизировали (Agilent ThermoLoc) и хранили при -20°C до 1 месяца. Повторное тестирование соединения 1 на контрольной линии клеток (A549) приводило к согласующимся значениям GI<sub>50</sub> и IC<sub>50</sub> независимо от последовательности повторного получения планшетов или времени хранения при -20°C, свидетельствуя, что соединение 1 является стабильным в используемых условиях хранения в настоящем исследовании в течение по меньшей мере 1 месяца. Когда все было готово для тестирования, планшеты извлекали из морозильной камеры, оттаивали и распечатывали непосредственно перед добавлением тестируемых клеток. Перед тестированием во флаконах для культивирования выращивали и размножали клетки для обеспечения достаточных количеств исходного вещества. Затем клетки разбавляли до подходящих величин плотности и добавляли непосредственно в 384-луночные планшеты с нанесенным соединением. Клетки оставляли расти в течение 96 часов при 37°C/5% CO<sub>2</sub>. В момент времени, когда добавляли соединение (t<sub>0</sub>), оценивали исходное количество клеток анализом выживаемости (Cell Titer-Glo) посредством количественного определения уровня люминесценции, генерируемой АТФ, содержащейся в жизнеспособных клетках. Через 96 ч оценивали выживаемость клеток, обработанных соединениями посредством измерения Cell Titer-Glo и люминесценции. Линии клеток анализировали на ингибирование роста соединением 1 по меньшей мере в 3 независимых тестах. В каждый из анализов включали контрольную линию клеток (линия клеток рака легкого, A549). С большой точностью наблюдали за ответом соединения против этой контрольной линии клеток для обеспечения возможности сравнения данных, получаемых в течение анализируемого периода. Все данные нормализовали и представляли в виде процента от клеток, обработанных DMSO. Затем результаты выражали в виде значения GI<sub>50</sub>. Значение GI<sub>50</sub> корректировали для подсчета клеток в момент времени ноль. Кроме того, рассчитывали значение IC<sub>50</sub> соединения 1 для каждой линии клеток. Результаты для соединения 1 для выбранных линий клеток HCC приведены в табл. 2.

Таблица 2

линия клеток НСС	GI <sub>50</sub> мкМ	IC <sub>50</sub> мкМ	Среда для выращивания
Нер3В	0.26 ± 0.07	0.34 ± 0.11	DMEM + 10% FBS
НерG2	0.24 ± 0.06	0.32 ± 0.13	DMEM + 10% FBS
HuH-7	0.07 ± 0.03	0.10 ± 0.04	DMEM + 10% FBS
PLC-PRF-5	0.31 ± 0.07	0.43 ± 0.07	DMEM + 10% FBS
SK-HEP-1	0.27 ± 0.04	0.33 ± 0.07	DMEM + 10% FBS
SNU-182	0.08 ± 0.03	0.26 ± 0.1	RPMI 1640 + 10% FBS
SNU-387	1.26 ± 0.47	2.47 ± 0.93	RPMI 1640 + 10% FBS
SNU-398	0.28 ± 0.06	0.29 ± 0.05	RPMI 1640 + 10% FBS
SNU-423	0.30 ± 0.05	0.48 ± 0.06	RPMI 1640 + 10% FBS
SNU-449	0.37 ± 0.07	0.48 ± 0.11	RPMI 1640 + 10% FBS
SNU-475	0.46 ± 0.09	0.69 ± 0.14	RPMI 1640 + 10% FBS

DMEM=модифицированная Дульбекко среда Игла;

FBS=эмбриональная телячья сыворотка.

Анализ апоптоза для линий NHL.

Перед тестированием во флаконах для культивирования выращивали и размножали клетки для обеспечения достаточных количеств исходного вещества. Затем клетки разбавляли до желаемых величин их плотности и добавляли непосредственно в 384-луночные планшеты с нанесенным соединением. Клетки оставляли расти в течение 24 ч в 5% CO<sub>2</sub> при 37°C. Апоптотный ответ оценивали посредством количественного определения активности каспазы 3 и каспазы 7 (Caspase 3/7-Glo) в обработанных клетках и контрольных клетках в момент времени 24 ч. Все данные нормализовали и представляли в виде значения относительно обработанных DMSO клеток. Затем результаты выражали в виде CaIX, что представляет собой минимальную концентрацию соединения, необходимую для удвоения уровней каспазы 3/7 относительно уровней обработанных DMSO клетках клетки во время их периода обработки.

Анализ ингибирования роста для линии клеток с различной чувствительностью к рапамицину (соединению 1).

Клетки высевали в 96-луночные планшеты в плотности, определяемой для каждой линии клеток, и обрабатывали на следующие сутки соединением 1 в диапазоне концентраций. Клетки инкубировали в течение 3 суток при 37°C, а затем к каждой лунке добавляли 20 мл WST-1 (Roche) для PC-3, A549, HCT 116, U87-MG, MDA-MB-231 и NCI-H23 или 100 мл реагента Cell Titer-Glo (Promega) для NCI-H460, T47D и проводили анализ в соответствии с протоколами производителя. Процент ингибирования при каждой концентрации соединения нормализовали на значения контроля DMSO. Процент ингибирования определяли для каждого повторения, а затем получали среднее 3 значений для каждой 3 серий лунок в трех повторениях. Все данные анализировали с использованием XLfit от IDBS. Формула, используемая для определения IC<sub>50</sub> в XLfit, представляла собой модель номер 205, в которой используют логистическую модель с 4 параметрами или сигмоидальную модель зависимости доза-эффект для вычисления значений IC<sub>50</sub>. Значения IC<sub>50</sub> приведены в виде среднего.

Эффекты рапамицина на пролиферацию, как правило, выходили на плато в большинстве линий клеток. Чувствительность к рапамицину определяли по уровню ингибирования, в случае если возникает такое плато, и оценивали, как указано ниже: чувствительные 100-55% ингибирования; частично чувствительные 54-31% ингибирования и нечувствительные 0-30%. Как можно видеть на фиг. 8, соединение 1 проявляет эффективное ингибирование клеточного роста, включая все типы, которые являются частично чувствительными или нечувствительными к рапамицину.

### 5.1.3. Анализ in vivo

Ортотопическое исследование печеночно-клеточной карциномы (Нер3В2.1-7).

Опухолевые клетки печени Нер3В2.1-7 человека культивировали в среде для культивирования клеток RPMI 1640 с добавлением 10% FBS, 1% глутамакса и 1% пенициллина-стрептомицина. Клетки собирали посредством трипсинизации, дважды промывали в HBSS и подсчитывали. Затем клетки ресуспендировали в HBSS:Matrigel™ (1:1, об./об.) до конечной концентрации 2×10<sup>8</sup> клеток/мл. Перед инокуляцией (при этом животное анестезировали инъекцируемым анестетиком кетамиллом (10 мг/мл)/ксилазилом (0,9 мг/мл)) кожу на месте разреза протирали спиртом и проводили разрез на коже прямо над печенью, чтобы обнажить основную долю печени. В основную долю печени вводили иглу, куда вливали 2×10<sup>6</sup> клеток Нер3В2.1-7 (в 10 мкл с 50% Matrigel™). Через четырнадцать суток после инокуляции отбирали сателлитную группу мышей для оценки наличия опухолей в печени.

Порошок соединения 1 суспендировали в 0,5% СМС/0,25% Tween 80 с получением исходной концентрации 2 мг/мл. В кратком изложении, соединение 1 взвешивали и добавляли объем 0,5% СМС/0,25%

Tween 80 для получения 2 мг/мл исходного раствора. Затем смесь перемешивали вихревым способом с последующей гомогенизацией с использованием ступки и пестика с получением тонкодисперсной суспензии. Для каждого дозирования получали свежий исходный раствор и разбавляли 0,5% СМС/0,25% Tween 80 для получения необходимой концентрации для дозирования.

Мыши в каждой группе ежедневно получали пероральную (п/о) обработку контрольным носителем (0,5% СМС/0,25% Tween 80, группа 1) или соединением 1 (1, 5 или 10 мг/кг, группы 4, 5 и 6 соответственно). Обработки начинали на 0 сутки и продолжали в течение трех недель.

Контрольный носитель и тестируемые препараты вводили в объеме дозирования 5 мл/кг. Непосредственно перед дозированием измеряли массу тела каждого животного. Рассчитывали объем дозируемого раствора, вводимого каждому животному, и регулировали в зависимости от индивидуальной массы тела.

В конце исследования или ранее, если мышей отбраковывали по этическим причинам, собирали образцы. Через один час после последней дозы у всех мышей, получавших контрольный носитель (группа 1) и соединение 1 (группы 4-6 включительно), собирали кровь при умерщвлении путем кровотоечения из сердца в содержащие литий-гепарин пробирки для сбора образцов. Образцы центрифугировали (2000 rcf) в течение 15 мин при 4°C. В свежие криопробирки собирали компоненты плазмы и хранили при -80°C. Вырезали и взвешивали интактную печень и опухоль. Опухоль удаляли из печени и отдельно взвешивали. Каждую опухоль разрезали на три части, одну часть хранили в 10% нейтральном забуференном формалине для заливки в парафин, а оставшиеся две части быстро замораживали в жидком азоте и хранили при -80°C. Для соединения 1 демонстрировали значительное ингибирование роста опухоли при 10 мг/кг (см. фиг. 17-18).

## 5.2. Клинические исследования

### 5.2.1. Мультицентровое открытое исследование 1/2 фазы по подбору дозы для оценки безопасности, переносимости, фармакокинетики и предварительной эффективности соединения 1, вводимого перорально индивидуумам с солидными опухолями на поздней стадии, неходжкинской лимфомой или множественной миеломой

Соединение 1 вводят перорально индивидуумам с солидными опухолями, неходжкинской лимфомой или множественной миеломой. Исследование планируют в виде испытания 1/2 фазы, состоящего из двух частей: повышения дозы (часть А) и оптимизации дозы (часть В).

Соединение 1 вводят перорально для определения безопасной и переносимой дозы и для определения непереносимой дозы (NTD) и максимальной переносимой дозы (MTD).

Оценки включают степень ингибирования фосфорилирования S6RP (Ser235/236 и/или Ser240/244) и/или 4EB-P1 (Thr37/46) для активности mTORC1 и АКТ (Ser473) и/или других релевантных биомаркеров активности mTORC2 в образцах периферической крови и биопсиях опухоли после лечения соединением 1 и степень эффективности соединения 1.

Исследуемая популяция состоит из мужчин и женщин в возрасте 18 лет или старше NHL, MM, нейроэндокринными опухолями на поздней стадии развития (последние также включают индивидуумов в возрасте 12 лет или старше) или неоперабельными солидными опухолями на поздней стадии, включая индивидуумов, у которых отмечали прогрессирование (или которые неспособны переносить) при стандартной терапии или для которых не существует стандартной противоопухолевой терапии.

Для обеих частей повышения дозы и оптимизации дозы этого протокола критерии включения представляют собой: (1) понятый и добровольно подписанный документ информированного согласия до проведения любых связанных с исследованием оценок/процедур; (2) мужчины и женщины в возрасте 18 лет или старше с гистологически или цитологически подтвержденной NHL, MM на поздней стадии или неоперабельными солидными опухолями на поздней стадии, включая индивидуумов, у которых отмечали прогрессирование (или которые неспособны переносить) при стандартной противоопухолевой терапии или для которых не существует стандартной противоопухолевой терапии; (3) оценки общего состояния согласно Восточной объединенной онкологической группе (ECOG) PS 0 или 1 для индивидуумов с солидными опухолями и 0-2 для гематологических злокачественных новообразований; (4) индивидуумы должны иметь следующие данные лабораторных анализов: абсолютное число нейтрофилов (ANC)  $\geq 1,5 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобин (Hgb)  $\geq 9$  г/дл, тромбоциты (plt)  $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$ , калий в пределах нормы или корректируемый добавками, AST/SGOT и ALT/SGPT  $\leq 2,5 \times$  верхняя граница нормы (ULN) или  $\leq 5,0 \times$  ULN при наличии опухоли печени, сывороточный билирубин  $\leq 1,5 \times$  ULN или  $\leq 2 \times$  ULN при наличии опухоли печени, сывороточный креатинин  $\leq 1,5 \times$  ULN или 24-часовой клиренс  $\geq 50$  мл/мин, отрицательный тест на беременность сыворотки или мочи в течение 48 ч до начала исследуемого вида лечения у женщин детородного возраста, и (5) способность соблюдать схему визитов исследования и другие требования протокола.

Для части оптимизации дозы (части В) этого протокола критерии включения представляют собой: (1) получение фиксированных в формалине, погруженных в парафин (FFPE) архивных образцов опухолевой ткани в виде блоков опухоли или нарезанных на срезы/приготовленных препаратов для анализа мутации генов и/или анализа ИНС биомаркеров для всех опухолей за исключением MM. Только в исключительных случаях для других типов опухолей спонсор может давать согласие на отказ от исключения; (2) достаточный скрининг биопсии для генной мутации и/или ИНС анализа биомаркеров для доступных

опухолей для всех опухолей за исключением NSCLC и NET (необязательно) и GBM; (3) гистологически подтвержденные опухоли следующих ниже типов, все с измеряемым заболеванием. Конкретные для типов критерии представляют собой в дополнение к указанным выше критериям или вместо них, где они применимы: (а) мультиформную глиобластому (GBM) или глиосаркому, за исключением олигоастроцитомы IV степени ВОЗ (для которой ранее проводили лечение, включая облучение и/или химиотерапию, где облучение завершали >12 недель до 1 суток; запланированная "спасительная" хирургическая резекция опухоли на сутки  $15 \pm 7$  суток, для которой предполагают удаление  $\geq 200$  мг опухолевой ткани; отсутствие введенного ранее или запланированного имплантата Gliadel® wafer, за исключением тех случаев, когда область оценки и планируемая резекция находится вне области, в которой ранее проводили имплантацию; отсутствие интерстициальной брахитерапии или стереотаксической радиохирургии, за исключением тех случаев, когда область оценки и планируемая резекция находится вне области, для которой ранее проводили лечение; отсутствие содержащих фермент противосудорожных лекарственных средств (EIAED), таких как карбамазепин, фенитоин, фенобарбитал или примидон, за 14 суток до суток 1; способность подвергаться повторным сканированиям магнитно-резонансной томографии (МРТ); возможность получения соответствующего архивного образца вещества опухоли FFPE (для биомаркеров PD); (b) печеночно-клеточную карциному (HCC) (подсчет тромбоцитов  $\geq 60 \times 10^9$ /л при наличии портальной гипертензии; классификация по Чайльду-Пью менее чем 10 (т.е. функционирование печени класса В печень или лучше); по меньшей мере 4 недели после последней дозы  $\alpha$ -интерферона и/или рибавирина; по меньшей мере 4 недели после вводимой ранее чрескожной инъекции этанола, радиочастотной абляции, трансартериальной эмболизации или криотерапии с документированием прогрессирования или рецидива заболевания); (с) желудочно-кишечную нейроэндокринную опухоль (NET), не относящуюся к поджелудочной железе, (местно неоперабельную или умеренно метастатическую, или хорошо дифференцированную, низкой (степени 1) или средней (степени 2) степени злокачественности, не относящуюся к поджелудочной железе NET кишечного происхождения или неизвестной первичной; исключают панкреатическую, бронхиальную и другую NET с происхождением в органах выше диафрагмы (например, гортани, глотки, щитовидной железы), феохромоцитомы, параганглиомы, аденокарциному и карциноидные опухоли из бокаловидных клеток и слабодифференцированные, с высокой степенью злокачественности (например, мелкоклеточные или крупноклеточные); индивидуумов в возрасте 12 лет или старше; включают симптоматические гормонально-активные или неактивные опухоли; необходима сопутствующая терапия аналогами (индивидуум должен получать стабильную дозу в течение по меньшей мере двух месяцев с документированным прогрессирующим заболеванием на терапии); рентгенологическое подтверждение прогрессирования заболевания в течение 12 месяцев до цикла 1, 1 сутки; отсутствие направленной на рецептор терапии с радиоактивной меткой в течение 3 месяцев до цикла 1, 1 сутки; отсутствие направленной на печень терапии с течение 4 недель до цикла 1, сутки 1, за исключение случаев, когда существует очаг измеряемого заболевания отличный от очага, для которого проводят лечение; в этой когорте скрининг и биопсия опухолей во время исследования являются необязательными; следует проводить сбор архивных образцов опухоли, но необязательно в этой когорте); (d) гормональный рецептор-положительный рак молочной железы (HRPBC) (неоперабельную местнораспространенную или метастатическую карциному молочной железы; ER-позитивную и HER2/neu-отрицательную (0 или 1+) опухоль; измеряемое заболевание согласно RECIST v1.1; необходимо получение по меньшей мере одной до линии гормональной терапии или по меньшей мере одного года терапии на основе ароматазы в сочетании со вспомогательными средствами, или шесть месяцев терапии ингибиторами ароматазы для метастатического заболевания; в стабильных дозах допустимы бисфосфонаты или деносумаб; когорту можно увеличивать для включения как минимум 5 индивидуумов, каждый с опухолями, содержащими мутации PIK3CA); (e) множественную миелому (MM) (измеряемые уровни миеломного парапротеина в сыворотке ( $>0,5$  г/дл) или моче ( $>0,2$  г выделенного за 24 ч собранного образца); абсолютное число нейтрофилов (ANC)  $\geq 1,0 \times 10^9$ /л; тромбоциты (plt)  $\geq 60 \times 10^9$ /л у индивидуумов, у которых  $<50\%$  мононуклеарных клеток костного мозга представляют собой плазматические клетки, или  $\geq 30 \times 10^9$ /л у индивидуумов, у которых  $\geq 50\%$  мононуклеарных клеток костного мозга представляют собой плазматические клетки); (f) диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL) (гистологически подтвержденную диффузную В-крупноклеточную неходжкинскую лимфому; тромбоциты (plt)  $\geq 60 \times 10^9$ /л для индивидуумов, у которых  $<50\%$  мононуклеарных клеток костного мозга представляют собой лимфомные клетки, или  $\geq 30 \times 10^9$ /л для индивидуумов, у которых  $>50\%$  мононуклеарных клеток костного мозга представляют собой лимфомные клетки; по меньшей мере 4 недели от последней дозы терапевтических глюкокортикостероидов; допустимы заместительные дозы глюкокортикостероидов при надпочечниковой недостаточности (до эквивалентного количества 10 мг ежедневно преднизона)).

Для обеих частей повышения дозы и оптимизации дозы этого протокола критерии исключения представляют собой: (1) манифестирующие метастазы в центральной нервной системе (за исключением GBM; допускаются индивидуумы с метастазами в головном мозге, которые ранее получали лечение и являются стабильными в течение 6 недель); (2) известный острый или хронический панкреатит; (3) индивидуумов с любой периферической нейропатией  $\geq 2$  степени CTCAE NCI; (4) индивидуумов с упорной

диареей или синдромом пониженного всасывания  $\geq 2$  степени CTCAE NCI, несмотря на лечение; (5) нарушенную сердечную функцию или клинически значимые заболевания сердца, включая любое из следующих ниже: LVEF < 45%, как определено сканированием MUGA или ЭХО, полную блокаду левой ножки предсердно-желудочкового пучка или бифасцикулярную блокаду, врожденный синдром удлинения интервала QT, хроническую или клинически значимую желудочковую аритмию или фибрилляцию предсердий, QTcF > 460 мс на ЭКГ скрининге (среднее значение записей в трех повторениях), нестабильную стенокардию или инфаркт миокарда  $\leq 3$  месяцев до начала введения соединения 1, другое клинически значимое заболевание сердца, такое как застойная сердечная недостаточность, требующая лечения, или неконтролируемая гипертензия (артериальное давление  $\geq 160/95$  мм рт.ст.); (6) индивидуумов с диабетом на активном лечении или индивидуумов с любым из следующих паразитов: (а) уровень глюкозы в крови натощак  $\geq 126$  мг/дл (7,0 ммоль/л) или (b) HbA1c  $\geq 6,5\%$ ; (7) другие конкурирующие тяжелые и/или неконтролируемые сопутствующие медицинские состояния (например, активная или неконтролируемая инфекция), которые могут вызывать неприемлемые риски безопасности или нарушать соблюдение протокола; (8)  $\leq 5$  периодов полувыведения или 4 недели перед системным направленным на злокачественную опухоль лечением или исследовательскими видами лечения, независимо от того, какой является короче, до начала введения исследуемого лекарственного средства, или тех, кто не восстановился от побочных эффектов такой терапии; (9) индивидуумов, которые претерпели полостную операцию за  $\leq 2$  недели до начала введения исследуемого лекарственного средства, или которые не восстановились от побочных эффектов такой терапии; (10) женщин, которые беременны или кормят грудью; взрослых репродуктивного возраста, не использующих две формы контроля рождаемости: (а) женщины, способные к деторождению, должны соглашаться использовать одновременно две подходящие формы способов контрацепции (один из них должен быть негормональным) от момента времени подписания информированного согласия до срока 28 суток после последней дозы соединения 1. Женщины, способные к деторождению, определяемые как половозрелые женщины, которые не подвергались гистерэктомии или двусторонней овариэктомии, или которые не находились в состоянии естественной менопаузы (т.е. у которых полностью отсутствовала менструация) в течение по меньшей мере 24 последовательных месяцев; (b) мужчины (с партнерами, которые представляют собой женщин, способных к деторождению, должны соглашаться, что они и их партнеры используют по меньшей мере два эффективных способа контрацепции (включая один барьерный способ) при поддержании сексуальной активности с возможностью зачатия на всем протяжении исследования, и избегают зачатия в течение 28 суток после принятия последней дозы соединения 1; (11) индивидуумов с известной инфекцией ВИЧ; (12) известную хроническую инфекцию вирусом гепатита В или С (HBV/HCV), за исключением случаев сопутствующего заболевания у индивидуумов с НСС; (13) любое значимое медицинское состояние, отклонения от нормы в лабораторных анализах или психическую болезнь, которая препятствует индивидууму участвовать в исследовании; (14) любое состояние, включая наличие отклонений от нормы лабораторных анализов, которое подвергает индивидуума неприемлемому риску, если он/она собиралась участвовать в исследовании; (15) любое состояние, которое затрудняет возможность интерпретации данных исследования.

Для части оптимизации дозы (части В) этого протокола критерии исключения представляют собой: (1) сопутствующее активное второе злокачественно новообразование, от которого пациент получает терапию, за исключением немеланомного рака кожи или карциномы *in situ* шейки матки.

Соединение 1 поставляют в соответствующих дозировках (например, 2,5 мг, 10 мг и 20 мг), содержащих только активный фармацевтический ингредиент в красновато-коричневых желатиновых капсулах для перорального введения. Не используют другие эксципиенты при получении капсул.

Соединение 1 вводят перорально по непрерывной схеме один раз в сутки без перерывов между циклами. Доза 7,5 мг/сутки соединения 1 в этом протоколе представляет собой начальную дозу. Каждую дозу принимают по утрам, где индивидуум воздерживается от пищи в течение ночи (минимально 6 ч). Потребление пищи откладывают по меньшей мере на 1 ч после дозирования на сутки приема соединения 1 дома. На сутки визита в клинику соединение 1 вводят в клинике после проведения любых тестов перед приемом препарата. Пищу принимают после проведения всех тестов натощак, но в любом случае не ранее чем через 60 мин после дозирования (3 ч после дозирования на 8 сутки). В случае, когда причиняющие беспокойство симптомы GI, усталость или другие симптомы сохраняются после окончания цикла 1, дозирование можно переносить на конец суток, при условии, что индивидуум может сохранять перерыв по меньшей мере в 3 ч между последним приемом пищи и введением соединения 1. Соединение 1 можно принимать позже в срок до 12 ч, если дозирование отложили на одни сутки; в противном случае дозирование в эти сутки необходимо отменить.

В части А индивидуумы получают однократные и многократные возрастающие уровни дозирования соединения 1 для измерения фармакокинетики (ПК) и идентификации максимальной переносимой дозы (MTD). Для определения начальной токсичности используют модифицированный план ускоренного титрования (Simon R., Freidlin B., Rubinstein L. et al., Accelerated Titration Designs for Phase I Clinical Trials in Oncology, Journal of the National Cancer Institute, (1997) Vol. 89, No. 15). Во время ускоренного курса начальные когорты из одного индивидуума получают соединение 1 с шагом повышения дозы

100% до первого случая 2 степени или более высокой степени токсичности первого курса, в этот момент часть ускоренного повышения дозы завершают, и эту конкретную когорту увеличивают до 6 индивидуумов. Затем для определения непереносимой дозы (NTD) и MTD начинают стандартную повышающую схему дозирования с шагом повышения дозы приблизительно 50% и 6 индивидуумами в когорте. Также можно оценивать меньший шаг повышения дозы и дополнительных индивидуумов в когорте дозирования.

Предполагают, что доза является непереносимой, если 2 оцениваемых индивидуума в когорте дозирования испытывают ограничивающую дозу токсичность (DLT). Когда NTD определена, повышение дозы прекращают. MTD определяют как тестируемую последнюю дозу ниже NTD с 0 или 1 из 6 оцениваемых индивидуумов, испытывающих DLT во время цикла 1. Для более точного определения MTD необходимой может являться промежуточная доза (т.е. доза между NTD и последним уровнем дозирования до NTD) или дополнительные индивидуумы в любой когорте дозирования.

В части В индивидуумы могут начинать принимать соединение 1 при MTD и/или более низком уровне дозирования в зависимости от данных о безопасности, PK и PD из части А. Приблизительно 150 индивидуумов подвергаются лечению и оценки в отношении безопасности и предварительной противоопухолевой активности после каждых двух циклов терапии. Типы опухолей включают немелкоклеточный рак легких (NSCLC), мультиформную глиобластому (GBM), печеночно-клеточную карциному (HCC), желудочно-кишечную нейроэндокринную опухоль, не относящуюся к поджелудочной железе (NET), диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), множественную миелому (MM) и гормональный рецептор-положительный рак молочной железы (HRPBC). В каждый тип опухоли включают до 20 индивидуумов.

Во время первого цикла только в части А индивидууму вводят однократную дозу соединения 1 (сутки -1) с последующим наблюдением в течение 48 ч и периодом взятия проб для PK с последующим на сутки 1 ежесуточным непрерывным дозированием в течение 28 суток (цикл 1=30 суток). В последующих циклах части А индивидуумы получают лечение в течение циклов длительностью 28 суток с непрерывным дозированием от 1 до 28 суток. В части В индивидуумы получают непрерывное дозирование в течение 28 суток от начала, отсутствует начальный период наблюдения в течение 48 ч или сбор образцов для PK.

Терапию можно прерывать, если наблюдают признаки прогрессирования заболевания, но индивидуумы могут продолжать получать соединение 1 при условии, что исследователь считает, что они получают положительный результат от лечения. Терапию прерывают, если существует неприемлемая токсичность, или если индивидуум решает выйти из исследования.

Когда показано снижение дозы, выбирают следующий более низкий уровень дозирования. Допустимыми являются два снижения дозы. Для начального уровня дозирования (7,5 мг) в части А снижение дозы проводят с шагом 2,5 мг. В части В начальный уровень дозирования составляет 45 мг один раз в сутки, допускают снижение дозы до 30 мг и 15 мг один раз в сутки. Если какой-либо индивидуум продолжает испытывать неприемлемую токсичность после 2 снижений дозы в части А, введение соединения 1 окончательно прекращают. В части В индивидуумам можно снижать дозу до 2 уровней (т.е. до 15 мг) и вновь повышать, если это клинически приемлемо; допустимы последующие снижения дозы, в случае повторяющейся токсичности, но при таких обстоятельствах повторное повышение дозы является не допустимым.

Индивидуумов оценивают в отношении эффективности каждые 2 цикла до 6 циклов и каждые 3 цикла в дальнейшем. Первичная переменная эффективности представляет собой ответ. Во время скрининга проводят оценки опухолей, включая сканирование (СТ, МРТ и/или PET) грудной клетки и брюшной полости и других отделов при необходимости. Индивидуумам с очагами в головном мозге также проводят сканирование головного мозга при скрининге и во время последующих оценок опухоли. После скрининга проводят оценки опухоли (для всех опухолей за исключением множественной миеломы) по окончании циклов 2, 4 и 6 (т.е. на циклы 3, 5 и 7/сутки  $1 \pm 7$  суток), а затем каждые 3 месяца в дальнейшем (например, цикл 10 и 13/сутки  $1 \pm 7$  суток). Оценки опухоли (для множественной миеломы и только NHL/DLBCL с известным или предполагаемым поражением костного мозга) (аспирация и биопсия костного мозга, с анализом биомаркеров PD, цитогенетическим анализом, если при скрининге они являлись аномальными) проводят только по окончании циклов 4, 8, 12 и 16 (т.е. на циклы 5, 9, 13 и 17/сутки  $1 \pm 7$  суток). Цитогенетические анализы не требуется повторять, если они являлись нормальными при скрининге. Ответ опухоли основан на критериях оценки ответа солидных опухолей (RECIST 1.1), международных экспертных критериях (IWC) для NHL/DLBCL или международных единых критериев ответа для множественной миеломы (IURC) и RANO для GBM с использованием пострезекционного МРТ-сканирования в качестве фонового уровня. Учитывая трудность в оценке ответа опухоли после "спасительной хирургической операции", первичная конечная точка эффективности для GBM представляет собой отношение индивидуумов без прогрессирования на 6 месяц от суток 1 к индивидуумам с оцениваемой эффективностью в типе GBM. Индивидуумов оценивают в отношении ответа опухоли по окончании 2, 4, 6 и т.д. Исследователь обеспечивает описательный анализ подтверждений противоопухоле-

вой активности на основании клинических и рентгенологических оценок, которые включают оценку целевого очага, нецелевого очага, новых очагов и общий ответ.

Представляющая интерес переменная эффективности для части А представляет собой лучший общий ответ. Другие переменные предварительной эффективности суммируют с использованием табличных данных частот для категориальных переменных или описательной статистики для непрерывных переменных.

Для части В подлежащие анализу переменные эффективности включают ответ опухоли в конце лечения, соотношение индивидуумов, оставшихся в живых и без прогрессирования заболевания, и продолжительность ответа. Переменные эффективности полностью готовы, когда последнего индивидуума из группы или когорты оценки исключают из исследования или завершают 6 циклов.

Коэффициенты выживаемости без прогрессирования заболеваемости вычисляют с использованием оценок Каплана-Мейера. Также описывают продолжительность ответа у индивидуумов, которые отвечают, с использованием конкретных критериев оценки. В зависимости от типа опухоли предоставляют двусторонний 90% CI частоты ответов и частоты PFS в момент времени каждой запланированной оценки ответа (т.е. циклы 2, 4, 6 и т.д.).

Другие переменные предварительной эффективности, включая общее состояние ECOG, CTC и результаты PET, суммируют с использованием табличных данных частот для категориальных переменных или описательной статистики для непрерывных переменных.

Исследуемые параметры включают ингибирование биомаркеров mTOR в крови и опухоли, гистопатологический ответ, корреляции с фармакогенными результатами и процентом ингибирования фосфо-АКТ (Ser473), фосфо-S6RP (Ser235/236 и/или Ser240/244), фосфо-4EB-P1 (Thr37/46) и/или других подходящих биомаркеров в образцах периферической крови и опухоли, нежелательные явления и клинический исход. В это исследование включают измерения показателей фармакодинамики (PD) для оценки целевого ингибирования сигнальных путей mTORC1 и mTORC2, последствий такого ингибирования и взаимосвязи PK/PD. В частях А и В анализ биомаркеров включает измерение фосфо-АКТ (mTORC2) в белковых лизатах, получаемых из выделенных тромбоцитов. Уровни фосфо-4EB-P1 и фосфо-S6RP (mTORC1) и фосфо-АКТ (mTORC2) измеряют на проточной цитометрии с использованием образцов цельной крови. Аналогично, в частях А и В измеряют фосфо-АКТ, фосфо-4EB-P1, фосфо-S6, Ki67 и/или другие подходящие маркеры для оценки активности соединения 1 в серийных биопсиях опухоли у индивидуумов по возможности с доступным заболеванием. Изменения каждого биомаркера определяют, сравнивая уровни биомаркеров в образцах до лечения и после него, и по возможности устанавливают корреляцию этих уровней с концентрацией лекарственного средства в крови и ткани, если они доступны, и ответами опухолей в течение длительного периода времени. Полное подробное описание всех статистических анализов и моделирований таких исходов описаны в плане статистического анализа и заключительном отчете по исследованию.

Переменные безопасности для этого исследования представляют собой нежелательные явления, клинические лабораторные переменные, ЭКГ в 12 отведениях (оцениваемые в центральной лаборатории), оценки LVEF, медицинские осмотры и показатели жизненно-важных функций. В части А решение об оценке более высокого уровня дозирования или о признании MTD принимает Комитет по рассмотрению вопросов безопасности (SRC) каждый раз, когда все данные о безопасности клинических и лабораторных анализов для данной когорты являются доступными для рассмотрения. SRC также определяет дозу, дозирование или план, подходящий для части В. Во время части В SRC продолжает регулярно анализировать данные о безопасности и выдает рекомендации о продолжительности исследования при необходимости.

В определенных вариантах осуществления у пациентов, к которым применяют клинический протокол, предоставленный в настоящем описании, выявляют положительный ответ опухоли, такой как ингибирование роста опухоли или уменьшение размера опухоли. В определенных вариантах осуществления у пациентов, к которым применяют клинический протокол, предоставленный в настоящем описании, выявляют улучшение состояния очагов в головном мозге, такое как уменьшение числа и размера. В определенных вариантах осуществления у пациентов, к которым применяют клинический протокол, предоставленный в настоящем описании, обеспечивают критерии оценки ответа солидных опухолей (RECIST 1.1) полного ответа, частичного ответа или стабильного заболевания. В определенных вариантах осуществления у пациентов, к которым применяют клинический протокол, предоставленный в настоящем описании, предотвращают критерии оценки ответа солидных опухолей (RECIST 1.1) прогрессирующего заболевания. В определенных вариантах осуществления у пациентов, к которым применяют клинический протокол, предоставленный в настоящем описании, выявляют улучшение международных экспертных критериев (IWC) или международных единых критериев ответа для множественной миеломы (IURC). В определенных вариантах осуществления у пациентов, к которым применяют клинический протокол, предоставленный в настоящем описании, выявляют улучшение критериев рабочей группы оценки ответа для нейроонкологии (RANO). В определенных вариантах осуществления у пациентов, к которым применяют клинический протокол, предоставленный в настоящем описании, выявляют улучшение общего статуса ECOG или результатов PET.

Измерения биомаркеров сигнального пути TOR в цельной крови.

Образцы крови, получаемые из мест проведения клинического исследования, разделяли на аликвоты в 96-луночный планшет с глубоким дном в лунках и оставляли в течение 1 ч при 37°C. Образцы стимулировали антителом против IgD и LPS в течение 15 мин при 37°C. Эритроциты лизировали и лейкоциты фиксировали буфером Lyse/Fix BD при соотношении 15:1 буфера к крови в течение 10 мин при 37°C. Планшеты центрифугировали, аспирировали и добавляли 1 мл ледяного метанола к лункам, содержащим фиксированные лейкоциты, чтобы пермеабиллизировать клетки для внутриклеточного окрашивания. Планшеты хранили в течение ночи при -80°C. Планшеты размораживали, центрифугировали, аспирировали и дважды промывали PBS+0,5% BSA. Клетки окрашивали антителами, специфическими к поверхностным маркерам CD3, CD14 и CD19 и к маркерам сигнального пути mTOR, включая фосфо-S6 (S235/236), p4EBP1 (T37/46) и фосфо-AKT (S473). Клетки дважды отмывали PBS и фиксировали 1,6% PFA.

Анализ образцов.

Образцы анализировали на цитометре с возможностью регистрации 8 цветов. При анализе образца во многих точках считывали данные контрольных лунок с многоцветными частицами с 8 пиками излучения (Spherotech Libertyville, IL).

Для каждого маркера вычисляли среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) на основании средней интенсивности флуоресценции в Т-клетках, В-клетках и моноцитах. MFI нормализовали с использованием многоцветных частиц с 8 пиками излучения и представляли в виде ERF (эквивалентные числа эталонных флуорофоров). ERF рассчитывали из MFI с использованием линейного регрессионного преобразования, проводимого на двойной логарифмической шкале с использованием многоцветных калибровочных частиц с 8 интенсивностями по 8 цветам. Для каждого пациента определяли процент изменения от исходного уровня для фосфо-S6, p4EBP1 и фосфо-AKT в стимулированных и нестимулированных Т-клетках, В-клетках и моноцитах. Исходная величина представляла собой среднее двух визитов (скрининга и цикла 1/сутки -1 при 0 ч перед дозированием), по мере доступности.

Часть А.

Результаты ускоренного повышения дозы. Для 28 индивидуумов проводили лечение при 5 уровнях дозирования: 7,5 (n=1), 15 (n=2), 30 (n=9), 45 (n=7) и 60 мг (n=8). Исходные характеристики являлись характерными для онкологических испытаний 1 фазы. Хотя ECOG 2 являлась пониженной, >95% индивидуумов имели ECOG 0 или 1. В исследование включали различные типы опухолей с наибольшим преобладанием CRC, рака молочной железы и рака поджелудочной железы. Половина пациентов ранее получала более 3 видов терапии (см. фиг. 21).

Оценивали пять уровней дозирования. Впервые связанную со 2 степенью токсичность наблюдали на 3 уровне дозирования (30 мг) и в дальнейшем когорты увеличивали как минимум до 6 индивидуумов с 50% шагом повышения дозы. Дополнительных индивидуумов обратно включали во все когорты за исключением уровня дозирования 1. Гипергликемию 3 степени описывали как DLT при 30 мг и сыпь 3 степени как DLT при 45 мг. В результате этого модифицировали критерии DLT протокола, чтобы обеспечивать возможность лечения сыпи и гипергликемии до того, как расценивать эти события как DLT у последующих пациентов. Усталость и воспаление слизистой оболочки описывали как DLT при 60 мг и эту дозу расценивали как NTD; MTD определяли как равную 45 мг один раз в сутки, и она являлась дозой, которую принимали в дальнейшем в части В (см. фиг. 22).

Наиболее часто встречающиеся связанные с соединением 1 события (>20%), а также все связанные со степенью 3/4 события представлены на фиг. 22. Усталость, токсичность GI (включая воспаление слизистой оболочки/стоматит), гипергликемия, сыпь и артралгия представляли собой наиболее часто встречающиеся события. Возникал один случай интерстициального пневмонита 3 степени, требующий госпитализации. Дозирование соединения 1 сохраняли, и пневмонит поддавался лечению стероидами. Максимальная переносимая доза (MTD) составляла 45 мг один раз в сутки (см. фиг. 23).

Наиболее часто описывали гипергликемию с началом, как правило, приходившимся на время 1 цикла. Гипергликемия была ассоциирована с повышением инсулина и с-пептида (фиг. 24) и являлась дозозависимой. В начале испытания проводили ежедневный мониторинг уровня глюкозы при взятии крови из пальца с быстрым введением метформина и/или инсулина при первом возникновении гипергликемии. Гипергликемия, как правило, поддавалась лечению, и пациенты были способны продолжать лечение соединением 1 при аналогичной или сниженной дозе.

Наблюдали пропорциональную дозу концентрации лекарственного средства, хотя существовал очень высокий уровень вариабельности концентрации между индивидуумами. При уровнях дозирования 30 мг и выше на основании доклинических моделей ксенотрансплантатов предполагают, что концентрации, превышающие уровни, обеспечивают >50% ингибирование сигнальных путей TORC1 (фосфо-S6) и TORC2 (фосфо-AKT) по меньшей мере в течение 8 ч после дозирования. Наблюдали только минимальное накопление лекарственного средства через 15 суток после дозирования. Наблюдали дозозависимую концентрацию с конечным периодом полувыведения от 4 до 8 ч (средняя равновесная C<sub>max</sub> 485 нг/мл, AUC<sub>0-24</sub> 2371 нг×ч/мл при 45 мг) (см. фиг. 25).

В образцах крови наблюдали ингибирование биомаркеров сигнального пути TOR с использованием

стимуляционного анализа (фиг. 26). Ингибирование TORC1 наблюдали посредством измерения изменений фосфо-4EBP1 и фосфо-S6 и TORC2 фосфо-AKT. Данные получали после первого дозирования соединения 1, и моменты времени получения образцов представляли собой перед дозированием, 1,5, 3 и 5 ч после дозирования. Ингибирование биомаркеров наблюдали в В-клетках, Т-клетках и моноцитах, и для демонстрации выбирали тип клеток с наиболее последовательными результатами. Соответствующее ингибирование обоих биомаркеров TORC1 и TORC2 наблюдали до 5 ч после дозирования соединения 1 в дозах 30 мг и выше, т.к. теоретически рассчитано на основании доклинического моделирования и получаемых концентраций у человека. Как правило, ингибирование маркера TORC1, фосфо-S6 являлось более полным и продолжительным, чем у маркера фосфо-4EBP1. Ингибирование фосфо-Akt подтверждало активность соединения 1, направленную против сигнальных путей TORC2, и отличает это средство от рапалогов, которые представляют собой преимущественно ингибиторы TORC1, и для которых было продемонстрировано, что они инициируют обратную положительную регуляцию фосфо-Akt. Анализ PK/PD продемонстрировал дозозависимую взаимосвязь концентрации соединения 1 и ингибирования mTOR-киназы.

У 15 индивидуумов демонстрировали ответы целевых очагов в стабильном диапазоне (см. фиг. 28), где для 1 индивидуума с раком молочной железы выявляли более чем 30% регрессию целевых очагов. 2 индивидуума с наибольшей регрессией опухоли страдали ER+раком молочной железы. Для одного индивидуума с раком молочной железы проводили более 11 циклов исследуемого лечения и демонстрировали подтвержденную PR, тогда как для второго индивидуума с ER+раком молочной железы проводили приблизительно 6 циклов исследуемого лечения и демонстрировали SD во время сканирования при первом повторном определении стадии (после 2 циклов лечения).

Уровень дозирования, продолжительность лечения и лучший общий ответ представлен на фиг. 29. Для одного индивидуума с раком молочной железы демонстрировали полную PR и проводили более 11 циклов исследуемого лечения. Для индивидуума проводили повышение дозы от 30 до 45 мг. Восемь индивидуумов имели стабильное заболевание во время сканирования при первом повторном определении их стадии (после 2 циклов лечения). Наибольшая продолжительность SD составляла 24 недели. Опухоли с SD включали NSCLC (2), молочной железы, рак слюнных желез, рак поджелудочной железы, аденокарциномный рак, злокачественные опухоли надпочечников и колоректальный рак (CRC). SD наблюдали при дозах в диапазоне от 15 до 60 мг.

Соединение 1 являлось хорошо переносимым с токсичностями, сравнимыми с другими лекарственными средствами, направленными на эти сигнальные пути. Наблюдали проявления ингибирования сигнальных путей TORC1/TORC2, а также предварительные признаки противоопухолевой активности, включая частичный ответ и стабильное заболевание, описанные выше. Увеличение когорт в выбранных гематологических и солидных опухолях обеспечивает оценку соединения 1 при MTD 45 мг один раз в сутки.

Часть В. Результаты повышения дозы (на основании результатов от 20 сентября 2012 г.).

Ингибирование биомаркеров сигнального пути TOR.

Во всех когортах наблюдали ингибирование TORC1 и TORC2 в крови, как измерено по ингибированию образования фосфо-Akt и фосфо-4EBP1 при измерении на исходном уровне (среднее значение скрининга и цикла 1/сутки 1 (t=0 ч) и на цикле 1/сутки 1 (t=1,5 ч после дозирования) и в цикле 1/сутки 15 (t=0 ч и 1,5 ч). Данные анализировали посредством парного t-критерия и получали значение  $P < 0,001$  при сравнении исходного уровня и цикла 1/сутки 1 (t=1,5 ч после дозирования) и между циклом 1/сутки 15 (t=0 ч) и циклом 1/сутки 15 (t=1,5 ч).

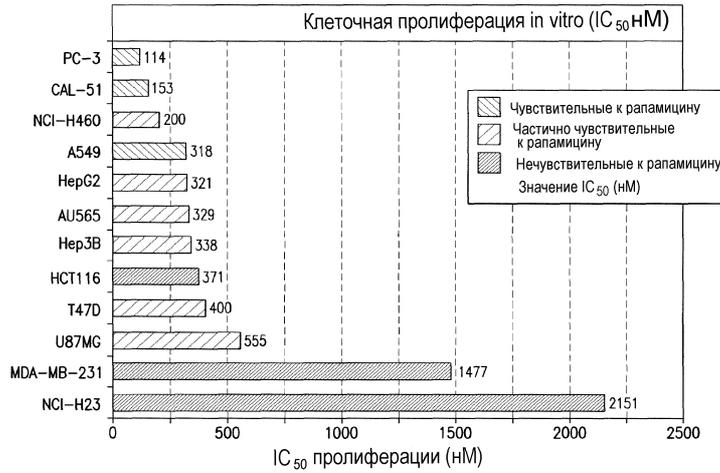
Пациенты с НСС: у большинства пациентов наблюдали ингибирование TORC1 (как измерено по проценту изменения от исходного уровня для p4EBP1) и ингибирование TORC2 (как измерено по проценту изменения от исходного уровня для фосфо-Akt/tAkt). У пациентов с НСС наблюдали некоторые признаки клинической активности. У 14 оцениваемых пациентов наблюдали наибольшие ответы целевых очагов до 47% уменьшения, где 5 пациентов соответствовали, по меньшей мере, стабильному заболеванию, и 2 пациента соответствовали критериям RECIST 1.1 частичного ответа. Для 8 пациентов проводили по меньшей мере 4 цикла исследовательского лечения.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

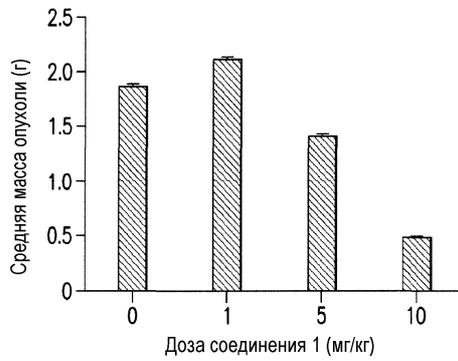
1. Способ лечения солидной опухоли, включающий введение эффективного количества 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли или стереоизомера пациенту, страдающему солидной опухолью, где солидная опухоль представляет собой печеночно-клеточную карциному, и где солидная опухоль является частично чувствительной к рапамицину.

2. Способ получения полного ответа, частичного ответа или стабильного заболевания, как определено критериями оценки ответа солидных опухолей (RECIST 1.1), у пациента, включающий введение эффективного количества 7-(6-(2-гидроксипропан-2-ил)пиридин-3-ил)-1-(транс-4-метоксициклогексил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли или стерео-

изомера пациенту, страдающему солидной опухолью, где солидная опухоль представляет собой печечно-клеточную карциному, и где солидная опухоль является частично чувствительной к рапамицину.

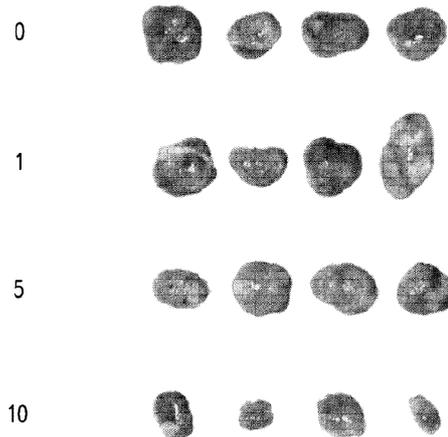


Фиг. 8



Фиг. 17

Доза соединения 1 (мг/кг)

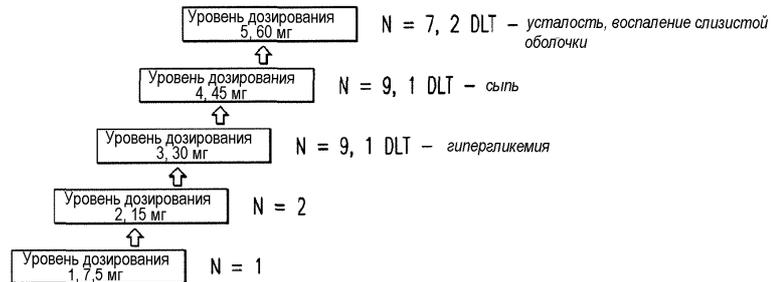


Фиг. 18

Средний возраст (диапазон)	50	25–80
Пол (n, %)		
М	9	32
Ж	19	68
ECOG (n, %)		
0	16	57
1	11	39
2	1	4
Тип опухоли (n, %)		
CRC	6	21
рак молочных желез	3	11
рак поджелудочной железы	3	11
NSCLC	2	7
GBM	2	7
HCC	2	7
рак слюнных желез	2	7
Другие* (каждый 1)	8	29
Число получаемых ранее видов терапии (n, %)		
1–3	14	50
>3	14	50

Фиг. 21

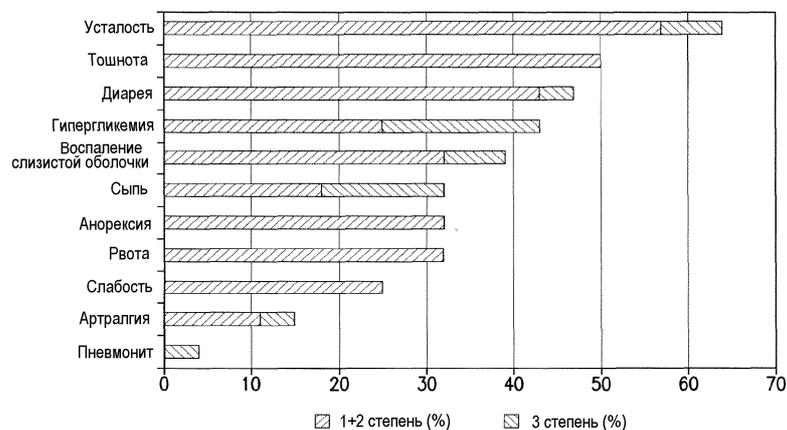
## Часть А: Ускоренное (1+5) повышение дозы



## Определение DLT

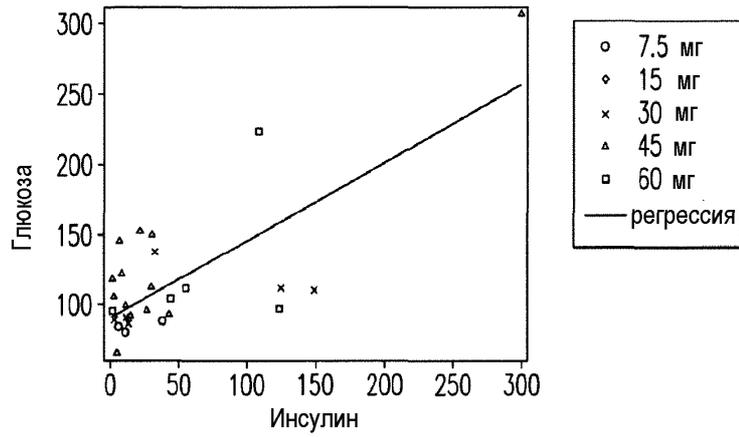
степень  $\geq 3$  АЕ, связанная с соединением 1, за исключением сыпи  $\leq 4$  суток, диареи/рвоты  $< 3$  суток  
 гипергликемия натощак: 2 степень  $> 14$  суток, 3 степени  $> 4$  суток  
 гематологические показатели: F&N, 4 степень ANC или тромбоциты  $> 7$  суток,  
 3/4 степень тромбоциты с кровотечением  
 печень: 3 степень, не ассоциированная с PD в печени, и 4 степень

Фиг. 22

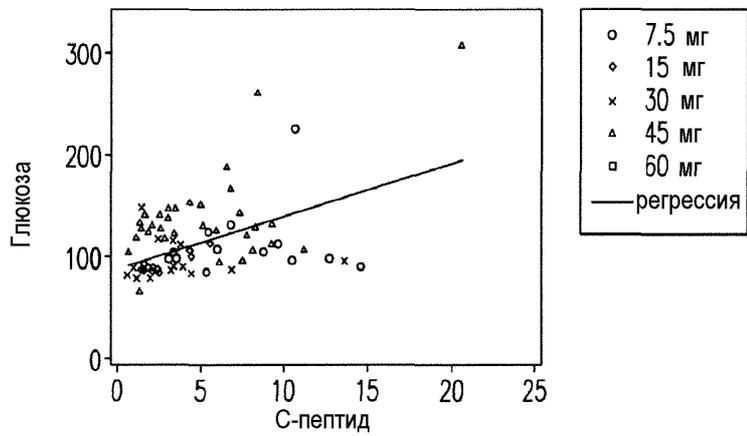


Фиг. 23

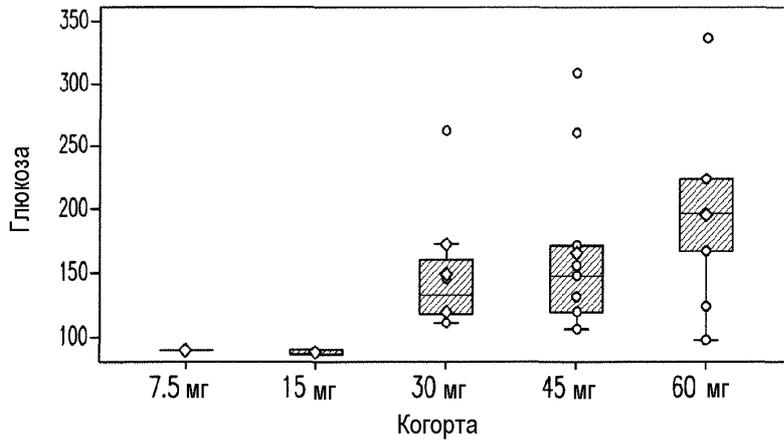
Глюкоза в сравнении с инсулином (1 цикл сутки 8)

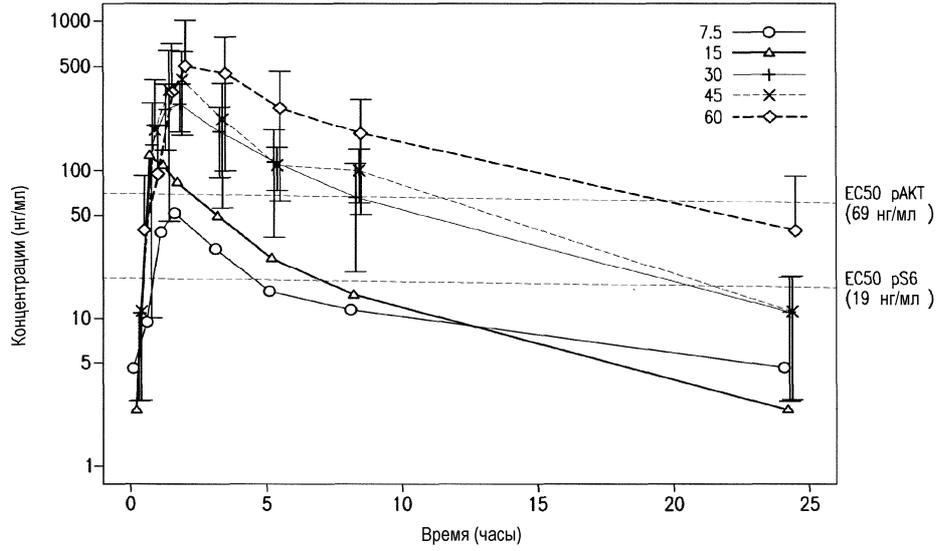


Глюкоза в сравнении с С-пептидом (все визиты)

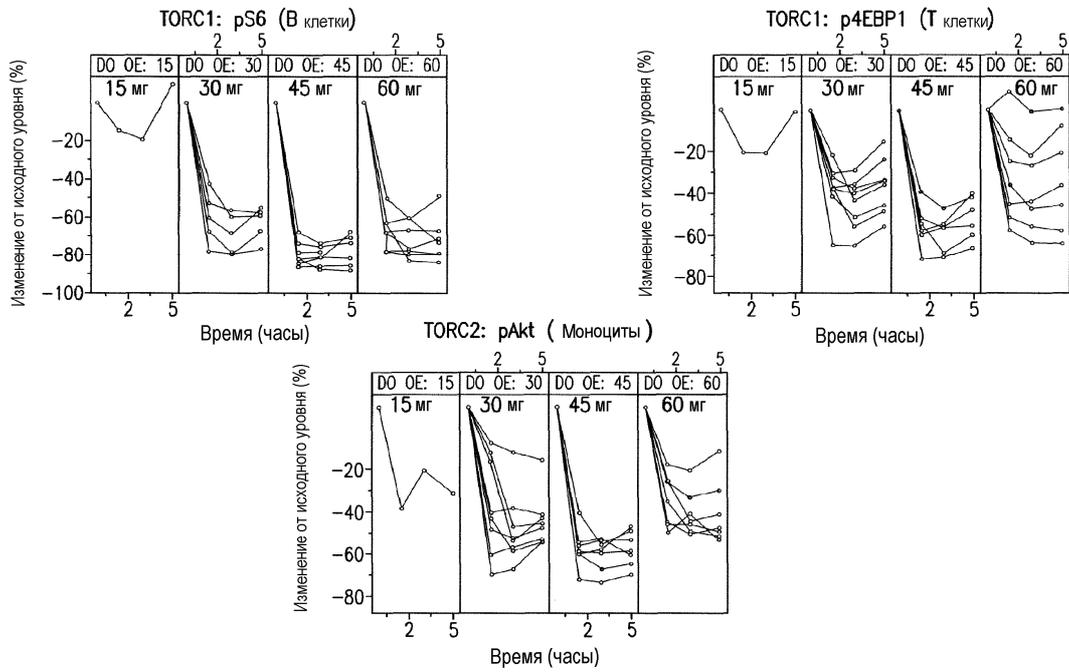


Глюкоза (наибольшее значение) в сравнении с дозой

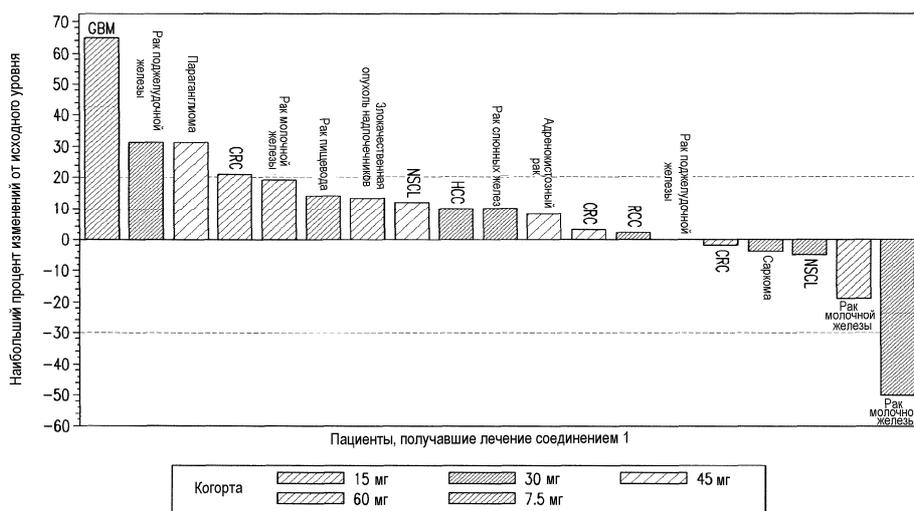




Фиг. 25



Фиг. 26



Фиг. 28

Циклы лечения	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	CB-C12
7.5 мг 1-001	Пак пищевода		PD					
15 мг 1-002	Рак молочной железы						SD	
15 мг 1-007	GBM		PD					
30 мг 1-003	NSCLC		SD					
30 мг 2-002	Рак поджелудочной железы		PD (гипергликемия DLT)					
30 мг 1-004	Рак почки		PD					
30-45 мг 1-005	Рак молочной железы							PR
30 мг 2-004	Лейомиосаркома		PD					
30 мг 1-006	HCC		NE					
30 мг 1-010	HCC		PD					
30/45 мг 1-008	Рак слюнных желез						SD	
45 мг 2-005	CRC		PD					
45 мг 2-006	Парагангиома		PD					
45 мг 1-009	Нейроэндокринная опухоль		PD					
45 мг 2-007	Рак поджелудочной железы						SD (DLT сыпь)	
45 мг 2-008	MM		NE					
45 мг 1-012	NSCLC						SD	
45 мг 2-009	CRC	NE						
45 мг 2-015	Аденокарциномный рак		SD					
45 мг 2-016	GBM	NE						
60/45 мг 2-010	CRC		PD (DLT усталость)					
60 мг 2-011	CRC	NE						
60/45 мг 1-013	CRC		NE					
60 мг 1-014	Злокачественная опухоль надпочечников		PD					
60/30 мг 1-017	Рак молочной железы		PD (DLT воспаление слизистых оболочек)					
60/45 мг 2-013	Злокачественная опухоль надпочечников						SD	
60 мг 2-014	CRC		SD					

\*Пациент 2-01 исключали (нарушение протокола после одной дозы)

Фиг. 29



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2