

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202090558** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2020.06.15

(51) Int. Cl. *A61K 9/08* (2006.01)
A61K 31/7072 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.08.30

(54) **СХЕМЫ ЛЕЧЕНИЯ**

(31) **1713916.3**

(32) **2017.08.30**

(33) **GB**

(86) **PCT/GB2018/052455**

(87) **WO 2019/043392 2019.03.07**

(71) Заявитель:

НУКАНА ПиЭлСи (GB)

(72) Изобретатель:

Гриффит Хью (GB)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к 5-фтор-2'-дезоксигуанидин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфату (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемой соли для применения в лечении рака, в частности, путем внутривенной инфузии непрерывно в течение периода до 10 ч. Изобретение также относится к способам лечения рака путем введения NUC-3373 конкретным субпопуляциям больных раком. Изобретение также относится к способам выбора пациента для лечения препаратом NUC-3373.

A1

202090558

202090558

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-561678EA/23

СХЕМЫ ЛЕЧЕНИЯ

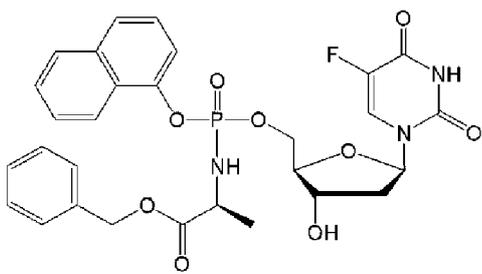
Настоящее изобретение относится к 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфату (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемой соли для применения в лечении рака. Изобретение также относится к способам лечения рака путем введения NUC-3373. Изобретение также относится к способам оценки эффективности противораковых лечений. Изобретение также относится к группам пациентов, которым будет особенно полезно лечение препаратом NUC-3373.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

NUC-3373

Протида является защищенными фосфатными производными нуклеозидов. Было показано, что они являются особенно сильными терапевтическими средствами в областях противовирусной терапии и онкологии. Протиды, как оказалось, обходят многие механизмы врожденной и приобретенной резистентности, которые ограничивают применимость исходных нуклеозидов.

ProTide адаптация нуклеозидого аналога, 5FUDR, 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфат (NUC-3373) **1** и ряд родственных соединений показали активность *in vitro* против ряда раковых моделей, во многих случаях и в частности, что касается NUC-3373, эта активность была выдающейся и намного превосходила результаты, полученные с 5-фторурацилом. Присоединение фосфорамидатной группы протида к 5-фторурацил/FUDR молекуле дает специфические преимущества доставки ключевой активированной формы этого средства (FUDR монофосфат) в опухолевые клетки. Доклинические исследования показали, что NUC-3373 преодолевает ключевые механизмы резистентности раковых клеток, связанные с 5FU и его пероральным пролекарством капецитабином, генерируя высокие внутриклеточные уровни активного FUDR монофосфатного метаболита, приводя к значительно большему ингибированию роста опухолевых клеток. Кроме того, в формальных токсикологических исследованиях на собаках NUC-3373 является значительно лучше переносимым, чем 5FU (см. WO2012/117246; McGuigan et al.; Phosphoramidate ProTides of the anticancer agent FUDR successfully deliver the preformed bioactive monophosphate in cells and confer advantage over the parent nucleoside; *J. Med. Chem.*; **2011**, 54, 7247–7258; и Vande Voorde et al.; The cytostatic activity of NUC-3073, a phosphoramidate prodrug of 5-fluoro-2'-deoxyuridine, is independent of activation by thymidine kinase and insensitive to degradation by phosphorolytic enzymes; *Biochem. Pharmacol.*; **2011**, 82, 441-452).



1

NUC-3373 **1**, как правило, получают в виде смеси двух диастереоизомеров, эпимерных на фосфатном центре (*S*-эпимер и *R*-эпимер).

Терапевтический эффект 5-фторурацила заключается в образовании нуклеотидов, которые блокируют нормальное образование нуклеиновых кислот. Это уравнивается катаболизмом под действием дигидропиримидиндегидрогеназы (DPD) в печени. Больные раком с дефицитом или частичным дефицитом дигидропиримидиндегидрогеназы (DPD) не способны разлагать 5FU и другие химиотерапевтические средства; большая часть разложения происходит в печени (DeLeve. *Drug-Induced Liver Disease (Third Edition)* 2013, pages 541-567). Более 85% 5-фторурацила расщепляется DPD; следовательно, активность DPD является основным фактором, определяющим активность и токсичность 5-фторурацила. Активность фермента DPD следует распределению по Гауссу с межиндивидуальной вариабельностью вплоть до шестикратной. В дополнение к нормальной вариабельности активности DPD, также существуют мутации в гене DPYD, которые могут привести к дефициту DPD, который встречается менее чем у 3% населения. Низкие уровни DPD и дефицит DPD уменьшают клиренс 5-фторурацила и могут привести к тяжелой или опасной для жизни токсичности.

В клиническом исследовании наблюдали, что 55% пациентов с пониженной активностью DPD страдали от нейтропении IV степени, по сравнению с 13% пациентов с нормальной активностью DPD ($P=0,01$). Кроме того, токсичность наступала, в среднем, в два раза быстрее у пациентов с низкой активностью DPD по сравнению с пациентами с нормальной активностью DPD (10,0 +/- 7,6 против 19,1 +/- 15,3 дней; $P < 0,05$) (van Kullenburg et al., *Clin Cancer res.* 6(12):4705-12, 2000).

К настоящему времени идентифицировано 39 различных мутаций и полиморфизмов в DPYD. IVS14+1G>A мутация оказалась наиболее распространенной и была обнаружена у 24-28% всех пациентов, страдающих от тяжелой 5FU токсичности. Таким образом, оказывается, что дефицит DPD является важным фармакогенетическим синдромом (van Kullenburg. *Eur. J. Cancer* 40(7):939-50, 2004).

Пониженное разложение в печени, например 5FU, приводит к пролонгированной экспозиции этого препарата, что может привести к серьезной токсичности, включая мукозит, диарею, гранулоцитопению, невропатию и смерть (Jin Ho Baek et al. *Korean J International Medicine.* 21:43-45, 2006). Наоборот, пациенты, не являющиеся DPD-дефицитными (например, с нормальными уровнями DPD), способны к расщеплению 5FU (и некоторых других химиотерапевтических средств) в печени, однако, 5FU расщепляется

до потенциально токсичных метаболитов, таких как α -фтор- β -аланин (FBAL) и дигидрофторурацил (dhFU), присутствие которых связано с синдромом «кисть-стопа» (также известным как химиотерапии-индуцированная акральная эритема или ладонно-подошвенная эритродизестезия, ладонно-подошвенный синдром) у 30-60% пациентов (Kruger et al. *Acta Oncologica* 1-8, 2015; Chiara et al. *Eur J Cancer* 33:967-969, 1997). Хотя это не является угрозой для жизни, но может сильно ослабить здоровье.

Следовательно, существует необходимость найти лечения рака с лучшим профилем безопасности (с меньшим количеством побочных эффектов), чем у существующих терапий, таких как 5FU, а также капецитабин или тегафур (пролекарства 5FU), чтобы эти лечения (например, средства) можно было использовать в качестве первой линии лечения пациентов, или чтобы можно было переключить пациента на эти средства, когда у него развивается побочный эффект, такой как синдром «кисть-стопа», или когда определяют, что у пациента может развиваться такой побочный эффект и/или менее токсичные побочные эффекты.

Целью настоящего изобретения является обеспечение терапевтической схемы для лечения рака. Также целью настоящего изобретения является обеспечение способов лечения раковых пациентов, у которых имеется дефицит DPD или частичный дефицит DPD или у которых развивается синдром «кисть-стопа». Также целью настоящего изобретения является обеспечение способов определения эффективности терапии для лечения рака. Также целью настоящего изобретения является обеспечение способов определения, является ли рак у субъекта DPD-дефицитным или частично дефицитным, и обеспечение терапии для лечения такого рака.

Целью настоящего изобретения является обеспечение терапии, которая является более эффективной и/или менее токсичной/более безопасной, чем существующие лечения.

Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения удовлетворяют некоторым или всем из указанных выше целей.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В первом аспекте изобретение обеспечивает 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфат (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемую соль для применения в лечении рака, где лечение осуществляют путем введения NUC-3373 в течение периода до 10 часов, такого как от 1 до 6 часов.

Во втором аспекте изобретение обеспечивает способ лечения рака, включающий введение 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфата (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, нуждающемуся в таком лечении, в течение периода до 10 часов.

В третьем аспекте изобретение обеспечивает применение 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфата (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства для применения в лечении рака, где лечение осуществляют путем введения лекарственного средства, включающего NUC-3373, в течение периода до 10 часов.

В четвертом аспекте изобретение обеспечивает способ оценки эффективности противораковой терапии, включающий:

анализ образца моноклеарных клеток периферической крови (PBMC) или раковых клеток от субъекта, принимающего противораковую терапию, для определения уровня внутриклеточного дезокситимидинмонофосфата (dTMP) в PBMC или раковых клетках,

где уменьшение уровня внутриклеточного dTMP в PBMC или раковых клетках указывает на то, что противораковая терапия является эффективной.

В пятом аспекте изобретение обеспечивает способ оценки эффективности противораковой терапии, включающий:

анализ образца моноклеарных клеток периферической крови (PBMC) или раковых клеток от субъекта, принимающего противораковую терапию, для определения уровня внутриклеточной тимидилатсинтазы (TS) в PBMC или раковых клетках,

где уменьшение уровня внутриклеточной TS в PBMC или раковых клетках указывает на то, что противораковая терапия является эффективной.

При воздействии 5FU уровни TS могут увеличиваться и могут способствовать резистентности. Поскольку лечение препаратом NUC-3373 приводит к более высоким уровням FUDRMP ингибитора, прогнозируется, что лечение препаратом NUC-3373 будет эффективным даже у пациентов с повышенными уровнями TS, которые типично повышаются из-за механизмов резистентности после лечения средствами, такими как 5FU.

В шестом аспекте изобретение обеспечивает способ оценки эффективности противораковой терапии, включающий:

анализ образца моноклеарных клеток периферической крови (PBMC) или раковых клеток от субъекта, принимающего противораковую терапию, для определения уровня внутриклеточного дезоксиуридинмонофосфата (dUMP) в PBMC или раковых клетках,

где повышение уровня внутриклеточного dUMP в PBMC или раковых клетках указывает на то, что противораковая терапия является эффективной.

Должно быть понятно, что подходящие раковые клетки для применения в способах четвертого - шестого аспектов изобретения можно выбрать на основании рака субъекта. Моноклеарные клетки периферической крови (PBMC) представляют собой клетки крови с ядрами, такие как моноциты, лимфоциты и макрофаги.

В седьмом аспекте изобретение обеспечивает 5-фтор-2'-дезоксиуридин-5'-O-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфат (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемую соль для применения в лечении рака путем повышения внутриклеточных уровней dUMP в обработанных раковых клетках, вызывая таким образом гибель раковых клеток. Не желая быть связанными теорией, авторы изобретения отмечают, что в этом сценарии возможно, что гибель раковой клетки происходит из-за уменьшения эффективности клеточного механизма репарации ДНК или из-за клеточного стресса.

В восьмом аспекте изобретение обеспечивает 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензоксид-L-аланинил)]фосфат (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемую соль для применения в лечении рака у субъектов, которые имеют дефицит или частичный дефицит дигидропиримидиндегидрогеназы (DPD).

В одном варианте осуществления восьмого аспекта изобретение обеспечивает 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензоксид-L-аланинил)]фосфат (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемую соль для применения в лечении рака у субъекта, у которого определен дефицит или частичный дефицит DPD.

В девятом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения рака, включающий введение 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензоксид-L-аланинил)]фосфата (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, нуждающемуся в таком лечении, где субъект имеет дефицит или частичный дефицит дигидропиримидиндегидрогеназы (DPD). У субъекта может быть определен дефицит или частичный дефицит DPD любыми подходящими средствами, включая средства, раскрытые в настоящей заявке.

NUC-3373 для применения в соответствии с любым из седьмого-десятого аспектов можно использовать в соответствии с любым из способов лечения или медицинских применений, описанных в настоящей заявке, в их различных аспектах или вариантах осуществления.

В десятом аспекте изобретение обеспечивает способ выбора субъекта для лечения 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензоксид-L-аланинил)]фосфатом (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемой солью, где способ включает определение, являются ли клетки печени, РВМС или раковая клетка субъекта DPD-дефицитными или частично дефицитными, при этом, если клетки печени, РВМС или раковая клетка субъекта являются DPD-дефицитными, субъекта выбирают для лечения 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензоксид-L-аланинил)]фосфатом (NUC-3373).

В одном варианте осуществления способ определения, являются ли клетки печени, РВМС или раковая клетка субъекта DPD-дефицитными или частично дефицитными, осуществляют путем определения количества или активности DPD в образце РВМС или раковых клеток от субъекта по сравнению с контрольным значением, при этом, если РВМС или раковые клетки субъекта являются DPD-дефицитными или частично дефицитными, субъекта выбирают для лечения 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензоксид-L-аланинил)]фосфатом (NUC-3373).

В одиннадцатом аспекте изобретение обеспечивает способ для определения, может ли пациент, страдающий раком, получить пользу от лечения 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензоксид-L-аланинил)]фосфатом (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемой солью, или будет ли он отвечать на такое лечение, при этом способ включает определение уровня активности DPD белка, экспрессируемого в раковой клетке, выделенной у пациента, при этом, если раковая клетка пациента экспрессирует уменьшенное количество DPD по сравнению с контрольным значением, есть возможность

того, что пациент получит пользу или будет отвечать на лечение 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфатом (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемой солью. В одном варианте осуществления определение, является ли пациент DPD-дефицитным или частично дефицитным, осуществляют на раковой клетке, ранее выделенной у пациента, страдающего раком.

В двенадцатом аспекте изобретение обеспечивает применение 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфата (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемой соли в способе лечения субъекта, страдающего раком, который имеет дефицит или частичный дефицит DPD.

В тринадцатом аспекте изобретение обеспечивает применение 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфата (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства для применения в способе лечения субъекта, страдающего раком, где способ включает:

(i) определение, является ли рак у субъекта DPD-дефицитным или частично дефицитным, и

(ii) введение субъекту, у которого рак идентифицирован как DPD-дефицитный или частично дефицитный, фармацевтически эффективного количества 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфата (NUC-3373).

В конкретном варианте осуществления рак у субъекта определяется как DPD-дефицитный или частично дефицитный, путем тестирования содержащего раковую клетку образца, ранее выделенного у субъекта, на активность DPD, присутствие DPD белка или его суррогата. В контексте настоящей заявки термин “пациент” и “субъект” используются взаимозаменяемо.

В качестве примера, подходящий суррогат может включать мРНК, продукты разложения DPD или отношение дигидроурацила к урацилу в плазме.

В четырнадцатом аспекте изобретение обеспечивает 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфат (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемую соль для применения в лечении рака у субъекта, у которого имеется риск развития или развивается (развился) синдром «кость-стопа» при лечении рака средством, отличным от NUC-3373. В конкретных вариантах осуществления у пациента имеется риск развития или развивается синдром «кость-стопа» при лечении или после лечения 5FU или капецитабином. Еще в одном аспекте обеспечивается 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфат (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении рака у субъекта, который страдает синдромом «кость-стопа». В конкретном варианте осуществления у субъекта развился синдром «кость-стопа» после лечения лекарственным средством, отличным от NUC-3373. В конкретных вариантах осуществления ‘лекарственное средство, отличное от NUC-3373’ представляет собой фторпиримидин, такой как 5FU, капецитабин или тегафур.

Известно, что у 30-60% пациентов, которых лечили 5FU, развивались кожные аномалии, такие как синдром «кость-стопа». У таких пациентов типично экспрессируются

нормальные уровни DPD. Такие потенциально приводящие к инвалидности побочные эффекты вероятно возникают из-за накопления токсичных побочных продуктов, таких как α -фтор- β -аланин (FBAL) и дигидрофторурацил (dhFU), при лечении противораковыми средствами, такими как 5FU и капецитабин (пролекарство 5FU). FBAL и dhFU определялись только на очень низких уровнях или вообще не определялись, соответственно, после введения NUC-3373 при исследуемых дозах, и поэтому ожидают, что лечение препаратом NUC-3373 не будет приводить к побочным эффектам, связанным с FBAL и dhFU, таким как синдром «кисть-стопа». Это означает, что пациентов, у которых развивается синдром «кисть-стопа» (или у которых имеется риск развития этого синдрома) при лечении рака, например при лечении 5FU или капецитабином, будет полезно переключить на лечение препаратом NUC-3373.

В одном варианте осуществления четырнадцатый аспект изобретения обеспечивает 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфат (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемую соль для применения в лечении рака у субъекта, у которого развился синдром «кисть-стопа» после лечения 5FU или капецитабином.

В пятнадцатом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения рака, включающий введение 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфата (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемой соли страдающему раком субъекту с синдромом «кисть-стопа». В конкретных вариантах осуществления у пациента развился синдром «кисть-стопа» в результате лечения 5FU или капецитабином. В конкретном варианте осуществления страдающего раком пациента переключают на лечение препаратом NUC-3373.

В шестнадцатом аспекте изобретение обеспечивает применение 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфата (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства для применения в способе лечения субъекта, страдающего раком, при этом способ включает:

(i) определение, имеет ли страдающий раком субъект синдром «кисть-стопа», и
(ii) введение страдающему раком субъекту с синдромом «кисть-стопа» фармацевтически эффективного количества 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфата (NUC-3373).

В семнадцатом аспекте изобретение обеспечивает способ выбора субъекта, страдающего раком, для лечения 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфатом (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемой солью, где способ включает определение, имеет ли субъект синдром «кисть-стопа», при этом, если субъект имеет синдром «кисть-стопа», субъекта выбирают для лечения 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфатом (NUC-3373).

NUC-3373 для применения в соответствии с любым из двенадцатого - семнадцатого аспектов можно использовать в соответствии с любым из способов лечения или медицинских применений, описанных в настоящей заявке, в их различных аспектах или вариантах осуществления.

В восемнадцатом аспекте изобретение обеспечивает способ для определения, произошла ли доставка активного противоракового средства в клетку, при этом способ включает:

анализ образца моноклеарных клеток периферической крови (РВМС) или раковых клеток от субъекта, принимающего противораковую терапию, для определения уровня внутриклеточного дезоксиуридинмонофосфата (dUMP) в РВМС или раковых клетках, где повышение уровня внутриклеточного dUMP в РВМС или раковых клетках указывает на то, что доставка активного противоракового средства в клетку успешно осуществлена. В конкретном варианте осуществления активное средство представляет собой NUC-3373.

кРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Варианты осуществления изобретения далее описаны на основании прилагаемых чертежей, на которых:

Фиг. 1 показывает C_{\max} и AUC для NUC-3373 в плазме крови.

Фиг. 2 показывает C_{\max} и AUC для внутриклеточного FUDR монофосфата.

Подробное описание изобретения

Первый - третий аспекты настоящего изобретения основаны на неожиданном открытии авторов изобретения, что NUC-3373 остается в кровотоке после введения в течение периода, который намного дольше, чем для 5-фторурацила (5FU), "исходного" соединения из которого происходит NUC-3373. Как объяснено далее в примерах, авторы изобретения обнаружили, что NUC-3373 имеет период полужизни в плазме приблизительно 9,4 часа, по сравнению с периодом полужизни всего 8-14 минут для 5FU. Это разница означает, что терапевтически эффективные уровни NUC-3373 поддерживаются гораздо дольше после введения этого средства, чем после постоянного 46-48-часового введения 5FU. Как следствие, для эффективного противоракового лечения препаратом NUC-3373 можно использовать периоды введения 5/10 часов или менее, например, 3 или 4 часа, и даже всего 1 или 2 часа. Это резко контрастирует с современными протоколами лечения 5FU, современным стандартом лечения многих видов рака. В данном случае, более короткий период полужизни 5FU требует оптимального введения препарата пациенту в течение длительных периодов времени для достижения терапевтической активности. Лечение путем введения постоянной инфузии 5FU в течение 46-48 часов является обычным, подчеркивая короткий период полужизни 5FU (8-14 минут). Иногда этой инфузии предшествует введение болюсной дозы (короткой инфузии) 5FU. Постоянная инфузия относится к введению жидкости в кровеносный сосуд, обычно в течение длительного периода времени.

Что касается медицинских применений и способов лечения по изобретению, должно быть понятно, что возможность достигать терапевтически эффективных уровней NUC-3373 у субъекта с использованием гораздо более коротких периодов инфузии дает много заметных преимуществ. Одно из основных преимуществ медицинского применения и способов лечения по изобретению заключается в меньшем повреждении и инвазивности

для реципиента. Предшествующие лечения, требующие длительных периодов инфузии, в районе 46-48 часов, значительно снижают качество жизни реципиента. Должно быть понятно, что меньший период введения приводит к сокращению времени пребывания в больнице и, следовательно, к возможному повышению качества жизни реципиента. Меньший период введения также приводит к снижению затрат на здравоохранение.

Способы оценки эффективности противораковой терапии, предусматриваемые в четвертом, пятом и шестом аспектах изобретения, вытекают из неожиданного открытия авторов изобретения, что лечение препаратом NUC-3373 способно снизить уровни и/или активность dTMP и TS в клетках субъектов, которым его вводят, и, поскольку dUMP не превращается в dTMP, лечение препаратом NUC-3373 приводит к повышенной аккумуляции внутриклеточного dUMP. Это новое открытие, которое дает не только представление о том, каким образом NUC-3373 может достигать своего терапевтического эффекта, но также обеспечивает способ, которым можно контролировать эффективность лечения. Истощение внутриклеточных уровней или активности dTMP или TS в РВМС не наблюдается у пациентов, получающих 5FU. И снова это указывает на отличающуюся, и повышенную, эффективность NUC-3373 по сравнению с его исходным соединением. TS катализирует превращение дезоксиуридинмонофосфата (dUMP) в дезокситимидинмонофосфат (dTMP). Затем dTMP фосфорилируется с образованием dTTP, особо важного предшественника для репликации и репарации ДНК (Wilson et al., Nat Rev Clin Oncol. 11 (5):282-98, 2014). Следовательно, снижение уровня внутриклеточной TS или ингибирование TS приводит к повышенным уровням dUMP в клетке, что приводит к повреждению ДНК.

Именно эта идентификация нового способа действия NUC-3373 лежит в основе медицинского применения в соответствии с седьмым аспектом изобретения. Признание этого нового способа действия, при котором лечение препаратом NUC-3373 повышает внутриклеточную аккумуляцию dUMP в раковых клетках, вызывая тем самым гибель клеток, обеспечивает возможность нового использования этого соединения в новых клинических применениях. В варианте осуществления седьмого аспекта изобретения NUC-3373 может действовать, приводя к уничтожению раковых клеток путем повышения уровней dUMP в клетках, что приводит к повреждению ДНК. Затем повреждение ДНК вызывает гибель клеток, что способствует эффективному лечению рака.

Медицинские применения и способы лечения в соответствии с восьмым, девятым, двенадцатым и тринадцатым аспектами настоящего изобретения, а также способы отбора и определения пациентов в соответствии с десятым и одиннадцатым аспектами изобретения относятся к раковым заболеваниям, которые являются DPD-дефицитными или частично дефицитными. Эти аспекты основаны на неожиданном открытии авторов изобретения, что токсичные побочные продукты введения 5FU, α -фтор- β -аланин (FBAL) и дигидрофтороурацил (dhFU), были обнаружены только на очень низких уровнях или вообще не были обнаружены после введения NUC-3373 при исследуемых дозах. Такие побочные продукты продуцируются 5FU, а также продуцируются при введении

капецитабина, пролекарства 5FU, в клинически значимых количествах (что приводит к побочным эффектам, таким как синдром «кисть-стопа»).

Медицинские применения и способы лечения в соответствии с четырнадцатым - семнадцатым аспектами изобретения, все относятся к больным раком, у которых развиваются побочные эффекты, такие как синдром «кисть-стопа», при приеме химиотерапевтических средств, таких как 5FU или капецитабин, вследствие накопления токсичных метаболитов (например, dhFU, FBAL), присутствие которых связано с синдромом «кисть-стопа». Опять же, эти аспекты основаны на неожиданном открытии авторов изобретения, что токсичные побочные продукты введения 5FU, α -фтор- β -аланин (FBAL) и дигидрофтороурацил (dhFU), были обнаружены только на очень низких уровнях или вообще не были обнаружены после введения NUC-3373 в исследуемых дозах.

Поскольку DPD участвует в разложении пиримидина, субъекты с дефицитом или частичным дефицитом DPD не способны метаболизировать 5FU или капецитабин.

Пациенты с дефицитом DPD, которых лечат 5FU или капецитабином, имеют существенно повышенный риск развития тяжелой (степень III/IV) и потенциально фатальной нейтропении, мукозита и диареи. Дефицит DPD имеется у 5% населения, и еще 3-5% населения имеют частичный дефицит DPD. Следовательно, уменьшение количества этих побочных продуктов (например, FBAL и dhFU) у пациентов, получавших NUC-3373, позволяет предположить, что пациентов с дефицитом и частичным с дефицитом DPD можно лечить NUC-3373, тогда как их нельзя лечить 5FU или капецитабином. Следовательно, NUC-3373 обеспечивает возможность лечения с более низким риском для пациентов с дефицитом или частичным дефицитом DPD по сравнению с 5FU или капецитабином.

У пациентов, получающих 5FU или капецитабин, которые не имеют дефицита DPD, часто развивается синдром «кисть-стопа», связанный с накоплением токсических побочных продуктов FBAL и dhFU. Поскольку эти побочные продукты практически не выявляются у пациентов, получавших NUC-3373, вероятно, что меньшее количество пациентов, получавших NUC-3373, если вообще будут таковые, будут иметь синдром «кисть-стопа» или любой другой побочный эффект, вызываемый этими побочными продуктами. Действительно, в клиническом исследовании, раскрытом в примерах, до сих пор ни у одного из 36 пациентов, принимавших лечение, не развился синдром «кисть-стопа». Поскольку синдром «кисть-стопа» возникает у 40-60% пациентов, лечившихся 5FU, если бы после введения NUC-3373 были получены клинически значимые уровни этих побочных продуктов, можно было бы ожидать, что у некоторых пациентов может развиться синдром «кисть-стопа». Это означает, что NUC-3373, вероятно, будет подходящим выбором для лечения онкологических пациентов, у которых имеется или может развиться синдром «кисть-стопа» или другие FBAL- или dhFU-опосредованные побочные эффекты. Например, пациент, получающий лечение 5FU, у которого развивается синдром «кисть-стопа», может быть переведен с 5FU на лечение NUC-3373; подобным образом, пациентов, у которых прогнозируется развитие синдрома «кисть-

стопа» при лечении определенным химиотерапевтическим средством (например, 5FU или капецитабином), можно лечить NUC-3373, а не средством, которое может привести к развитию синдрома «кисть-стопа». Пациентов, у которых с большей вероятностью может развиваться синдром «кисть-стопа», можно выявить на основании обнаружения одного или нескольких подходящих суррогатных маркеров (например, биомаркеров), которые определяют предрасположенность к развитию синдрома «кисть-стопа» при лечении химиотерапевтическим препаратом, таким как 5FU.

Другие детали различных аспектов и вариантов осуществления изобретения описаны ниже. Технические особенности, описанные в связи с любыми аспектами или вариантами осуществления изобретения, также следует рассматривать как применимые к другим аспектам и вариантам осуществления, описанным в настоящей заявке, если из контекста не следует иное.

Соединение

5-Фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфат (NUC-3373) может представлять собой смесь фосфатных диастереоизомеров или может присутствовать в виде (S)-эпимера в по существу диастереомерно чистой форме или в виде (R)-эпимера в по существу диастереомерно чистой форме.

NUC-3373 может не быть в форме соли. Предпочтительно, NUC-3373 находится в форме свободного основания.

“По существу диастереомерно чистый” определяется для целей настоящего изобретения как диастереомерная чистота более чем около 90% (“около” в данном контексте означает +/- 5%). Если он присутствует в виде по существу диастереомерно чистой формы, NUC-3373 может иметь диастереоизомерную чистоту более 95%, 98%, 99% или даже 99,5%.

Рак, подлежащий лечению

Рак может представлять собой рак, выбранный из: рака поджелудочной железы, рака молочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, других уротелиальных раков, рака желудочно-кишечного тракта (также известного как рак пищеварительного тракта), рака печени, рака легкого, рака желчных протоков, рака предстательной железы, холангиокарциномы, рака почки, нейроэндокринного рака, саркомы, лимфомы, лейкоза, рака шейки матки, рака тимуса, рака неизвестного первичного происхождения, мезотелиомы, рака надпочечников, рака матки, рака фаллопиевых труб, перитонеального рака, рака эндометрия, тестикулярного рака, рака головы и шеи, рака центральной нервной системы, базально-клеточной карциномы, болезни Боуэнса, других видов рака кожи (таких как злокачественная меланома, опухоль из клеток Меркеля и редкие опухоли придатков), плоскоклеточной неоплазии поверхности глаза и герминогенных опухолей.

Рак может быть выбран из группы, состоящей из: лейкоза, лимфомы, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака легкого, рака молочной железы, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака яичника и рака желудочно-кишечного тракта. Рак желудочно-кишечного тракта может быть выбран из группы, состоящей из:

рака пищевода, гастрального рака, рака желудка, рака кишечника, рака тонкой кишки, рака толстой кишки, муцинозного аппендикса, карциноида из бокаловидных клеток, рака печени, рака желчных путей, рака желчного пузыря, рака анального канала и рака прямой кишки.

Рак может быть рецидивирующим. Рак может быть метастатическим. Рак может быть ранее нелеченным. Рак может быть рефрактерным раком, который ранее лечили, но он оказался невосприимчивым к предшествующему лечению. Альтернативно, у больного раком может быть непереносимость предыдущей терапии, например, могут развиваться побочные эффекты, которые приводят к непереносимости пациентом дальнейшего лечения вводимым средством. Примером этого является развитие синдрома «кисть-стопа» при приеме некоторых противораковых терапий, таких как 5FU и капецитабин или тегафур.

Соответственно, лечение в соответствии с медицинскими применениями или способами по изобретению может быть обеспечено в качестве терапии рака первой линии (т.е. первой терапии рака, обеспечиваемой после диагностики заболевания). Альтернативно, это можно использовать в качестве второй или последующей линии лечения рака. Можно использовать в качестве третьей линии или дальнейшего лечения рака.

Схема лечения

Первый, второй и третий аспекты изобретения все относятся к лечению, требующему введения NUC-3373 в течение периода до 10 часов. Специалист в данной области поймет, что, за исключением случаев, когда контекст требует иного, в любом из медицинских применений и способов лечения по изобретению, описанных в настоящей заявке (таким образом, включая описанные в седьмом, восьмом, девятом, двенадцатом и тринадцатом аспектах изобретения) можно использовать введение NUC-3373 в течение периода до 10 часов.

Подходящим образом, NUC-3373 предназначен для применения в лечении рака, где лечение осуществляют путем введения NUC-3373 в течение периода до 9 часов, до 8 часов, до 7 часов, до 6 часов, или путем введения NUC-3373 в течение периода до 5 часов.

NUC-3373 может быть предназначен для применения в лечении рака, где лечение осуществляют путем введения NUC-3373 в течение периода до 4,75 часа, до 4,5 часа, до 4 часов, до 3,75 часа, до 3,5 часа, до 3,25 часа, до 3 часов, до 2,75 часа, до 2,5 часа, до 2,25 часа, до 2 часов, до 1,75 часа, до 1,5 часа, до 1,25 часа, до 1 часа, до 0,75 часа, до 0,5 часа, или путем введения в течение периода до 0,25 часа.

Подходящим образом, NUC-3373 предназначен для введения в течение периода от 1 до 6 часов, от 1 до 5 часов, от 1 до 4 часов, от 1 до 3 часов, от 2 до 4 часов, от 3 до 6 часов, от 3 до 5 часов или от 1 до 2 часов.

Подобным образом, в способах лечения в соответствии с различными аспектами изобретения NUC-3373 подходящим образом вводят в течение периода до 9 часов, до 8 часов, до 7 часов, до 6 часов или до 5 часов для лечения рака.

Например, NUC-3373 можно вводить в течение периода до 4,75 часа, до 4,5 часа, до 4 часов, до 3,75 часа, до 3,5 часа, до 3,25 часа, до 3 часов, до 2,75 часа, до 2,5 часа, до 2,25 часа, до 2 часов, до 1,75 часа, до 1,5 часа, до 1,25 часа, до 1 часа, до 0,75 часа или до 0,5 часа для лечения рака.

Введение NUC-3373

Предпочтительно, введение осуществляют путем инфузии, но это также может быть или может включать болюсное введение.

NUC-3373 можно вводить парентерально, например, внутривенно, подкожно или внутримышечно. Предпочтительно, NUC-3373 вводят внутривенно, например, через центральную или периферическую линию.

NUC-3373 можно вводить парентерально в виде водной композиции, которая необязательно также включает полярный органический растворитель, например DMA, вместе с поверхностно-активным веществом. В случае парентерального (например, внутривенного) введения, композиция предпочтительно также включает полярный апротонный органический растворитель, например DMA.

Композиция может предназначаться для разбавления предварительно определенным количеством незадолго до введения, т.е. до 48 часов (например, до 24, 12 или 2 часов) перед введением.

Композиция также может включать один или несколько фармацевтически приемлемых солюбилизаторов, например фармацевтически приемлемые неионные солюбилизаторы. Солюбилизаторы также можно назвать поверхностно-активными веществами или эмульгаторами. Иллюстративные солюбилизаторы включают полиэтоксигированные жирные кислоты и сложные эфиры жирных кислот и их смеси. Подходящие солюбилизаторы могут представлять собой или включать полиэтоксигированное касторовое масло (например, которое продается под торговым названием Kolliphor[®] ELP); или могут представлять собой или содержать полиэтоксигированную гидроксистеариновую кислоту (например, продаваемую под торговыми марками Solutol[®] или Kolliphor[®] HS15); или могут представлять собой или содержать полиэтоксигированный (например, полиоксиэтилен(20)) сорбитанмоноолеат (например, который продается под торговым названием Tween[®] 80).

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления композиция включает более одного фармацевтически приемлемого солюбилизатора.

Композиция также может включать водный носитель. Композиция может быть готова для введения, и в этом случае она обычно будет включать водный носитель.

Композиция может быть предназначена для парентерального, например для внутривенного, подкожного или внутримышечного введения. Предпочтительно композиция предназначена для внутривенного введения. Введение может осуществляться через центральную вену или через периферическую вену.

Композиция может представлять собой композицию, описанную в WO2017/109491.

Хотя NUC-3373 предпочтительно сформулирован для парентерального введения, в

некоторых вариантах осуществления изобретения его можно вводить перорально или местно.

Для вышеуказанных применений и способов по изобретению вводимая доза, конечно, будет варьироваться в зависимости от конкретного способа введения, желаемого лечения и указанного расстройства. Ожидается, что уровни доз, частота введения и продолжительность лечения соединениями по изобретению будут различаться в зависимости от композиции и клинических показаний, возраста и сопутствующих заболеваний пациента. Размер дозы соединений по изобретению для терапевтических целей, естественно, будет варьироваться в зависимости от природы и тяжести состояния, возраста и пола животного или пациента и пути введения в соответствии с хорошо известными принципами медицины.

NUC-3373 можно вводить в дозе в пределах от 100 мг/м^2 до 4000 мг/м^2 , например от 100 мг/м^2 до 3000 мг/м^2 . NUC-3373 можно вводить в дозе в пределах от 500 мг/м^2 до 2000 мг/м^2 . NUC-3373 можно вводить в дозе в пределах от 2000 мг/м^2 до 4000 мг/м^2

NUC-3373 можно вводить в день 1 28-дневного цикла. Его можно вводить в дни 1, 8, 15 и 22 28-дневного цикла. Его можно вводить в дни 1 и 15 28-дневного цикла.

Должно быть понятно, что “цикл” представляет собой курс лечения (цикл лечения), который обычно чередуется с периодами отдыха (отсутствие лечения).

NUC-3373 можно вводить как часть 4, 5, 6, 7 или более серий циклов. Серия циклов относится к числу последовательных циклов, типично чередующихся с периодом отдыха (перерыв в лечении).

Способы оценки эффективности противораковой терапии

Четвертый, пятый, и шестой аспекты изобретения обеспечивают способы оценки эффективности противораковой терапии. Способы третьего, четвертого и пятого аспектов изобретения особенно полезны для оценки эффективности противораковых терапий у субъектов, принимающих противораковое лечение с использованием NUC-3373. Например, способы третьего, четвертого и пятого аспектов изобретения можно использовать применительно к субъекту, принимающему лечение препаратом NUC-3373, используемым в медицинском применении изобретения (например медицинском применении в соответствии с первым, третьим, седьмым, восьмым или тринадцатым аспектами изобретения), или принимающему NUC-3373 в способе лечения в соответствии с изобретением (например, в способе лечения в соответствии с вторым, девятым или двенадцатым аспектами изобретения).

Подходящим образом, уровень внутриклеточного dTMP, dUMP или TS в РВМС или раковых клетках можно сравнить с подходящим контрольным значением. Только в качестве примера, подходящее контрольное значение может быть типичным уровнем внутриклеточного dTMP, dUMP или TS в клетках, выбранных из: клеток того же субъекта до приема противораковой терапии; клеток субъекта, не принимающего противораковую терапию; и клеток субъекта, принимающего противораковую терапию средством, отличным от NUC-3373. Контрольные клетки могут представлять собой РВМС или

соответствующие раковые клетки. Сбор контрольных РВМС или раковых клеток можно осуществить таким же образом, как сбор РВМС или раковых клеток от субъекта. Подходящим образом, контрольные значения можно получить из среднестатистических показателей. Подходящим образом, контрольные значения получают путем тестирования клетки того же самого пациента перед началом лечения (исходные уровни).

Как указано выше, уменьшение уровня внутриклеточного dTMP или TS в РВМС или раковых клетках по сравнению с соответствующим контролем (например, с исходным уровнем до лечения) указывает на эффективное лечение. И наоборот, на эффективное лечение указывает увеличение уровня внутриклеточного dUMP в РВМС или раковых клетках. Подходящим образом, уменьшение уровня внутриклеточного dTMP или TS представляет собой уменьшение по меньшей мере на 25%. Действительно, уменьшение уровня внутриклеточного dTMP может представлять собой уменьшение по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%.

В подходящем варианте осуществления уменьшение уровня внутриклеточного dTMP или TS представляет собой по существу полное сокращение внутриклеточного dTMP или TS. Для целей настоящего изобретения, уменьшение уровня внутриклеточного dTMP или TS по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% может считаться по существу полным сокращением внутриклеточного dTMP или TS.

NUC-3373 работает путем ингибирования внутриклеточной TS. В подходящем варианте осуществления ингибирование уровня внутриклеточной TS означает существенное ингибирование функции внутриклеточной TS. Для целей настоящего изобретения ингибирование внутриклеточной TS по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% может считаться по существу полным ингибированием внутриклеточной TS.

Увеличение уровня внутриклеточного dUMP, указывающее на эффективное лечение рака, может быть увеличением по меньшей мере на 25%. Подходящим образом увеличение может представлять собой увеличение по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%. Действительно, подходящее увеличение уровня внутриклеточного dUMP может представлять собой увеличение на 100% или более.

Уровни внутриклеточных dTMP, TS или dUMP можно определить во время приблизительно в пределах от 1 до 6 часов после того, как субъект начал противораковое лечение. Подходящим образом, уровни внутриклеточных dTMP, TS или dUMP можно определить во время приблизительно в пределах от 1 до 6 часов после введения противоракового средства субъекту.

Должно быть понятно, что для целей настоящего изобретения термин “приблизительно”, когда он относится к моменту времени для определения биомаркера, означает плюс или минус 1 час. Соответственно, уровни внутриклеточного dTMP или TS могут быть определены в любое время в течение цикла лечения. Должно быть понятно, что соответствующим временем является время взятия образцов, а не время проведения анализа. Например, если образец отбирают через 6 часов, но замораживают или обрабатывают другим способом, чтобы гарантировать, что количество биомаркера остается примерно на том же уровне, и образец затем анализируют через 12 часов, то соответствующее время - это время взятия образца, т.е. через 6 часов, а не время анализа, который осуществляют через 12 часов.

Внутриклеточные уровни dTMP, TS или dUMP можно определить любым подходящим анализом или методом, известным специалистам. Подходящий анализ для определения dTMP может включать сверхвысокоэффективную жидкостную хроматографию в тандеме с масс-спектрометрией (СВЭЖХ-МС), как описано в приведенных ниже примерах, или высокоэффективную жидкостную хроматографию/масс-спектрометрию (ВЭЖХ/МС). Этот же метод можно использовать для оценки уровней внутриклеточного dUMP.

Подходящие методы или анализы для определения уровней TS могут включать вестерн-блот, иммуноанализы, аминокислотные анализы или SDS-PAGE. Детекция уровней TS вестерн-блоттингом раскрыта в примерах ниже.

Например, специалистам в данной области также известны другие подходящие способы определения уровней dUMP.

В случае, если у субъекта наблюдается минимальное или нулевое снижение внутриклеточного dTMP или TS, или минимальное или отсутствие увеличения внутриклеточного dUMP, лечащий врач может увеличить или отменить прием дозы NUC-3373, вводимой субъекту. Поэтому следует понимать, что уровни dTMP, TS или dUMP могут использоваться для информирования о подходящем лечении для отдельного пациента.

Дефицит дигидропиримидиндегидрогеназы (DPD)

Аспекты изобретения с восьмого по тринадцатый все относятся к медицинским применениям и способам, где субъект имеет дефицит или частичный дефицит DPD. Дефицит DPD является аутосомно-рецессивным метаболическим расстройством, при котором отсутствует или существенно снижена активность DPD, фермента, участвующего в метаболизме урацила и тимина. Снижение активности может быть результатом снижения экспрессии DPD или экспрессии DPD с пониженной функцией. Дефицит DPD может проявляться как полный или частичный дефицит.

Стандартные методики определения, является ли клетка, такая как клетка печени, РВМС или раковая клетка, дефицитной по DPD, хорошо известны, и специалист должен обладать соответствующими знаниями для проведения соответствующих тестов. Примеры таких тестов включают тесты, описанные ниже.

Ферментативная активность DPD у субъектов с подозрением на дефицит DPD может быть определена путем анализа белка DPD, выделенного из клеток печени, РВМС или раковых клеток. Активность DPD также можно оценивать путем анализа на суррогат белка DPD, такой как РНК, выделенная из клеток печени, РВМС или раковых клеток. Затем можно определить количество копий мРНК DPD. Также можно осуществить анализ нуклеиновых кислот, кодирующих DPD, в отношении присутствия или отсутствия амплификации гена DPD, или присутствия или отсутствия мутаций DPD, указывающих на DPD или активность DPD в подходящих клетках (таких как клетки печени, РВМС или раковые клетки), выделенных у субъекта, представляющего интерес.

У человека фермент DPD кодируется DPYD геном. Известно, что существует более чем 50 мутаций в DPYD гене, идентифицированных у людей с дефицитом DPD (Diagnostic Molecular Pathology: A Guide to Applied Molecular Testing, 2017, Edited by: William B. Coleman and Gregory J. Tsongalis).

Только в качестве примера, субъект может иметь генетическую мутацию, выбранную из IVS14+1G>A мутации в интроне 14 наряду с делецией экзона 14 (известна как DPYD*2A), 496A>G в экзоне 6; 2846A>T в экзоне 22; и T1679G (DPYD*13) в экзоне 13. Также было показано, что генетические варианты в DPYD гене на хромосоме 1p21.3 приводят к нарушению активности DPD (Diagnostic Molecular Pathology: A Guide to Applied Molecular Testing, 2017, Edited by: William B. Coleman and Gregory J. Tsongalis).

В одном варианте осуществления пятого, шестого, седьмого, восьмого, девятого или десятого аспекта изобретения субъект имеет мутацию в DPYD гене, которая приводит к дефициту или частичному дефициту DPD.

В другом варианте осуществления пятого, шестого, седьмого, восьмого, девятого или десятого аспекта изобретения генетическую мутацию у субъекта, которая приводит к дефициту или частичному дефициту DPD, можно выбрать из: IVS14+1G>A мутации в интроне 14 наряду с делецией экзона 14 (известна как DPYD*2A), 496A>G в экзоне 6; 2846A>T в экзоне 22; и T1679G (DPYD*13) в экзоне 13. В другом варианте осуществления пятого, шестого, седьмого, восьмого, девятого или десятого аспекта изобретения субъект имеет мутацию в хромосоме 1p21.3 гена DPYD, которая приводит к дефициту или частичному дефициту DPD.

Тестирование на IVS14+1G>A DPYD вариант (DPYD*2A) описано в литературе (Terrazzino, S. et.al, Pharmacogenomics. 2013 Aug; 14(11):1255-72).

Можно использовать высокопроизводительный генетический анализ с использованием денатурирующей высоко-эффективной жидкостной хроматографии (ДВЭЖХ), особенно если у субъекта присутствует тяжелая нейтропения.

Субъект также может быть охарактеризован как имеющий дефицит DPD или частичный дефицит DPD, если у него имеются клинические или физиологические признаки такого дефицита.

Просто в качестве примера, у субъекта ранее могла проявляться непереносимость 5FU или капецитабина. Такая непереносимость является известной клинической

характеристикой субъектов с дефицитом или частичным дефицитом DPD. Таким образом, в подходящем варианте осуществления пятого, шестого, седьмого, восьмого, девятого или десятого аспекта изобретения у субъекта ранее проявлялась непереносимость 5FU или капецитабина.

Альтернативно или дополнительно, у субъекта может быть семейная история непереносимости 5FU или капецитабина. Таким образом, в подходящем варианте осуществления пациент, выбранный для применения NUC-3373 в соответствии с пятым, шестым, седьмым, восьмым, девятым или десятым аспектом изобретения, имеет семейную историю непереносимости 5FU или капецитабина.

Известной физиологической характеристикой субъектов с дефицитом или частичным дефицитом DPD является изменение отношения дигидроурацила к урацилу в плазме. Уменьшение этого отношения свидетельствует о дефиците или частичном дефиците DPD. Таким образом, в подходящем варианте осуществления субъект может быть идентифицирован как имеющий дефицит или частичный дефицит DPD путем анализа образца плазмы для оценки отношения дигидроурацила к урацилу и сравнения этого отношения с подходящими контрольными значениями.

В конкретном варианте осуществления рак у пациента можно определить как DPD-дефицитный или частично дефицитный путем тестирования образца, содержащего раковую клетку или РВМС, который был ранее выделен у пациента, на присутствие DPD белка, активность DPD белка или его суррогата (например, мРНК). В конкретном варианте осуществления рак у пациента можно определить как DPD-дефицитный или частично дефицитный путем тестирования образца, содержащего раковую клетку или РВМС, на присутствие генетических мутаций, указывающих на дефицит или частичный дефицит DPD.

В одном варианте осуществления первого и второго аспектов изобретения NUC-3373 можно вводить в течение периода до 10 часов субъектам с дефицитом или частичным дефицитом DPD. Субъект может быть идентифицирован как имеющий дефицит или частичный дефицит DPD и выбран для лечения на основании этого. Дефицит или частичный дефицит DPD можно определить любым из способов, раскрытых в настоящей заявке.

В другом варианте осуществления первого и второго аспектов изобретения NUC-3373 можно вводить в течение периода до 10 часов субъектам, у которых ранее могла проявляться непереносимость 5FU или капецитабина. Подходящим образом, субъекты могут иметь семейную историю непереносимости 5FU или капецитабина. Субъект может быть выбран для лечения на основании непереносимости 5FU или капецитабина.

Субъект может быть идентифицирован как имеющий дефицит или частичный дефицит DPD, если определено, что у него понижена экспрессия или функция DPD по меньшей мере на 10% (по сравнению с подходящим контрольным значением), как оценивается любым из соответствующих тестов, описанных в настоящей заявке. Соответственно, субъект с дефицитом или частичным дефицитом DPD может иметь

снижение экспрессии или функции DPD по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или по меньшей мере на 90% по сравнению с подходящим контрольным значением. Соответственно, у субъекта с дефицитом DPD может по существу отсутствовать экспрессия или функция DPD, как оценивается любым из соответствующих тестов, описанных в настоящей заявке.

Синдром «кисть-стопа»

Аспекты изобретения с четырнадцатого по семнадцатый все относятся к медицинским применениям и способам, где у пациента/субъекта, страдающего раком, происходит развитие или имеется опасность развития синдрома «кисть-стопа» при лечении химиотерапевтическим средством, таким как 5FU или капецитабин.

Синдром «кисть-стопа» развивается у 30-60% пациентов при лечении 5FU и родственными 5FU фторпиримидинами (Kruger et al. Acta Oncologica 1-8, 2015; Chiara et al. Eur J Cancer 33:967-969, 1997). Он возникает из-за накопления токсичных метаболитов 5FU, таких как dhFU и FBAL. Синдром «кисть-стопа» представляет собой потенциально дозолимитирующую кожную токсичность. Он характеризуется парестезией с распределением по типу “носка и перчаток”, с различной степенью боли, покалывания, сухости, эритемы, шелушения, отека и везикуляции кистей рук и стоп. Болезненного красного отека кистей рук и стоп у пациента, получающего химиотерапию, обычно достаточно, чтобы поставить диагноз H&F синдрома.

В одном варианте осуществления больного раком с синдромом «кисть-стопа» выбирают и лечат препаратом NUC-3373. В одном варианте осуществления больному раком, которого лечат 5FU или капецитабином, у которого развивается синдром «кисть-стопа», лечат препаратом NUC-3373; как правило, это будет означать переключение пациента с 5FU или капецитабина на NUC-3373, но это может также включать комбинированное лечение, при котором пациенту вводят NUC-3373 в дополнение к 5FU.

Вместо того, чтобы ждать переключения лечения на NUC-3373 со средства (например, терапевтического лекарственного средства, такого как 5FU), которое приводит к развитию у пациента синдрома «кисть-стопа», можно использовать соответствующие генетические анализы (например, генетические анализы DPD), чтобы предсказать, имеется ли у какого-либо конкретного пациента вероятность развития синдрома «кисть-стопа», если вводить 5FU или другое химиотерапевтическое средство, которое, как известно, связано с синдромом «кисть-стопа». В конкретном варианте осуществления у пациента определяют синдром «кисть-стопа» на основании физического осмотра (например, болезненный красный отек кистей рук и стоп у пациента, получающего химиотерапию).

В одном варианте осуществления после переключения лечения на NUC-3373 симптомы синдрома «кисть-стопа» уменьшаются. В конкретном варианте осуществления симптомы полностью ослабляются.

Образцы

Должно быть понятно, что в способах четвертого, пятого, шестого, десятого и одиннадцатого аспектов изобретения используется “образец”, такой как РВМС или раковые клетки. Используемый здесь термин “образец” обычно относится к биологическому образцу, полученному от, или выделенному у, субъекта, нуждающегося в лечении рака или принимающего такое лечение.

В некоторых вариантах осуществления биологический образец состоит из биологической ткани или жидкости или включает ее. Как указано ранее, подходящий образец может включать раковые клетки, клетки печени и/или РВМС. В некоторых вариантах осуществления биологический образец может представлять собой или включать кровь; клетки крови; плазму; асциты костного мозга; образцы биопсии ткани или тонкоигольной биопсии; жидкости организма, содержащие клетки; внеклеточные нуклеиновые кислоты; бесклеточную циркулирующую опухолевую ДНК; мокроту; слюну; мочу; спинномозговую жидкость, перитонеальную жидкость; плевральную жидкость; фекалии; лимфу; гинекологические жидкости; мазки с кожи; мазки из влагалища; мазки из ротовой полости; мазки из носа; промывки или лаважи, такие как дуктальные лаважи или бронхоальвеолярные лаважи; аспираты; соскобы; выделения и/или экскременты; и/или клетки из них.

В некоторых вариантах осуществления биологический образец представляет собой или включает клетки, полученные от индивидуума. В некоторых вариантах осуществления полученные клетки представляют собой или включают клетки от субъекта. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой “первичный образец”, полученный непосредственно из интересующего источника любым подходящим способом. Например, в некоторых вариантах осуществления первичный биологический образец получают способами, выбранными из группы, состоящей из биопсии (например, аспирации тонкой иглой или биопсии ткани), хирургического вмешательства, сбора жидкости организма (например, крови, лимфы, асцита, фекалий).

В некоторых вариантах осуществления, как будет понятно из контекста, термин “образец” относится к препарату, который получают обработкой (например, удалением одного или нескольких компонентов и/или добавлением одного или нескольких агентов) первичного образца, например, фильтрацией с использованием полупроницаемой мембраны. Такой “обработанный образец” может включать, например, нуклеиновые кислоты или белки, экстрагированные из образца или полученные такими методами обработки первичного образца, как амплификация (например, полимеразная цепная реакция) или обратная транскрипция мРНК, выделение и/или очистка определенных компонентов.

Подходящий образец может быть выбран на основании его способности содержать анализируемый аналит, такой как белок DPD (или его суррогат), dTMP, dUMP, TS, dhFU или FBAL.

В некоторых вариантах осуществления образец может быть жидким, твердым или смешанным биологическим образцом, полученным от субъекта, имеющего или у которого

подозревается рак с дефицитом DPD. Подходящие образцы ткани включают образцы раковой ткани, включая образцы, которые могут быть получены биопсией или после хирургической резекции рака, окружающих тканей и/или отдаленных тканей, в которых, как известно или подозревается, присутствуют метастазы.

Способы диагностики/определения по изобретению можно осуществить с использованием образца, ранее взятого у индивидуума или пациента. Такие образцы можно сохранить путем замораживания или фиксировать и погрузить в формалин-парафин или другие среды. Альтернативно, образец, содержащий свежие раковые клетки, можно получить и использовать сразу же или заморозить и протестировать позже.

Как отмечено выше, присутствие белка DPD можно обнаружить в клетках, включая ядра клеток, с использованием любого из множества методов. В конкретных вариантах осуществления присутствие белка DPD определяют с использованием иммуногистохимии, иммунофлуоресценции, вестерн-блоттинга, капиллярного электрофореза, проточной цитометрии или ELISA. Кроме того, эти методы могут применяться с использованием антитела или антитела с цифровым штрих-кодом к белку DPD. Антитело с цифровым штрих-кодом представляет собой антитело, где ДНК-штрих-коды присоединены к антителу. Множество штрих-кодированных антител можно затем проанализировать параллельно и затем проанализировать путем ДНК-секвенирования (например, см. Agasti et al. J Am Chem Soc. 134 (45):18499-18502, 2012)

Как правило, уровень DPD можно определить с использованием любого из множества методов. Во многих вариантах осуществления уровень экспрессии DPD оценивают путем определения уровня продукта гена DPD в образце, полученном из опухоли. Уровень белка DPD также можно определить с использованием суррогата белка DPD, такого как, например, мРНК, кодирующая DPD. Необязательно, мРНК определяют непосредственно или измеряют после преобразования в кДНК, которая необязательно может быть амплифицирована (например, методом ПЦР с обратной транскриптазой).

Специалист в данной области техники легко сможет определить подходящие контрольные значения, с которыми можно сравнивать количество подходящей молекулы-мишени (например, DPD). Только в качестве примера, экспрессию молекулы-мишени в раковой ткани можно сравнить с экспрессией этой же молекулы в нераковой ткани, такой как соседняя нераковая ткань. Экспрессию можно оценить на уровне белка, например иммуногистохимическим методом, или на уровне ДНК, например методом флуоресцентной гибридизации *in situ*, или на уровне РНК, например методом количественной ПЦР в реальном времени.

СОЕДИНЕНИЯ, ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ ПО ИЗОБРЕТЕНИЮ

Повсеместно в настоящем описании термин S-эпимер или S-диастереоизомер относится к 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфату. Подобным образом, повсеместно в настоящем описании термин R-эпимер или R-диастереоизомер относится к 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]-(R)-фосфату.

Соединения по изобретению можно получить, хранить и/или вводить в форме фармацевтически приемлемой соли. Подходящие фармацевтически приемлемые соли включают, но не ограничиваются этим, соли фармацевтически приемлемых неорганических кислот, таких как хлористоводородная, серная, фосфорная, азотная, угольная, борная, сульфаминовая и бромистоводородная кислоты, или соли фармацевтически приемлемых органических кислот, таких как уксусная, пропионовая, масляная, винная, малеиновая, гидроксималеиновая, фумаровая, яблочная, лимонная, молочная, муциновая, глюконовая, бензойная, янтарная, щавелевая, фенилуксусная, метансульфоновая, толуолсульфоновая, бензолсульфоновая, салициловая, сульфаниловая, аспарагиновая, глутаминовая, эдетиновая, стеариновая, пальмитиновая, олеиновая, лауриновая, пантотеновая, дубильная, аскорбиновая и валериановая кислоты. Подходящие основные соли образуются из оснований, которые образуют нетоксичные соли. Примеры включают соли алюминия, аргинина, бензатина, кальция, холина, диэтиламина, диоламина, глицина, лизина, магния, меглумина, оламина, калия, натрия, трометамин и цинка. Также могут быть образованы гемисоли кислот и оснований, например гемисульфат, гемиоксалат и гемикальциевые соли. В некоторых вариантах осуществления, особенно тех, которые относятся к s-эпимеру, соединение находится в форме соли HCl или гемиоксалатной соли.

Соединения по изобретению могут существовать в монокристаллической форме или в виде смеси кристаллических форм, или они могут быть аморфными. Таким образом, соединения по изобретению, предназначенные для фармацевтического применения, можно вводить в виде кристаллических или аморфных продуктов. Они могут быть получены, например, в виде твердых тампонов, порошков или пленок такими способами, как осаждение, кристаллизация, сублимационная сушка или распылительная сушка или испарительная сушка. Для этой цели можно использовать микроволновую или радиочастотную сушку.

Соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль можно использовать как таковые, но обычно их вводят в форме фармацевтической композиции, в которой соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемая соль находятся в ассоциации с фармацевтически приемлемым адьювантом, разбавителем или носителем. Обычные процедуры выбора и получения подходящих фармацевтических композиций описаны, например, в "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988.

В зависимости от способа введения соединений по изобретению фармацевтическая композиция, которую используют для введения соединений по изобретению, предпочтительно будет содержать от 0,05 до 99% масс. (процентов по массе) соединений по изобретению, более предпочтительно от 0,05 до 80% масс. соединений по изобретению, еще более предпочтительно от 0,10 до 70% масс. соединений по изобретению и еще более предпочтительно от 0,10 до 50% масс. соединений по изобретению, при этом все массовые проценты указаны в расчете на общую массу

композиции.

Для перорального введения соединения по изобретению можно смешать с адьювантом или носителем, например лактозой, сахарозой, сорбитом, маннитом; крахмалом, например картофельным крахмалом, кукурузным крахмалом или амилопектином; производным целлюлозы; связующим, например желатином или поливинилпирролидоном; и/или смазывающим веществом, например стеаратом магния, стеаратом кальция, полиэтиленгликолем, воском, парафином и т.п., и затем прессовать в таблетки. Если требуются таблетки с покрытием, ядра, полученные, как описано выше, можно покрыть концентрированным раствором сахара, который может содержать, например, аравийскую камедь, желатин, тальк и диоксид титана. Альтернативно, таблетка может быть покрыта подходящим полимером, растворенным в легколетучем органическом растворителе.

Для получения мягких желатиновых капсул соединения по изобретению можно смешать, например, с растительным маслом или полиэтиленгликолем. Твердые желатиновые капсулы могут содержать гранулы соединения с использованием любых указанных выше эксципиентов для таблеток. Также жидкие или полутвердые композиции соединения по изобретению можно использовать для заполнения твердых желатиновых капсул.

Жидкие препараты для перорального применения могут быть в форме сиропов или суспензий, например растворов, содержащих соединение по изобретению, остальное составляет сахар и смесь этанола, воды, глицерина и пропиленгликоля. Необязательно, такие жидкие препараты могут содержать красители, ароматизаторы, подсластители (такие как сахарин), консерванты и/или карбоксиметилцеллюлозу в качестве загустителя или другие эксципиенты, известные специалистам в данной области техники.

Что касается парентерального (например, внутривенного) введения, соединения можно вводить в виде стерильного водного или масляного раствора. Соединения по изобретению являются очень липофильными. Следовательно, водные композиции также, как правило, будут содержать фармацевтически приемлемый полярный органический растворитель.

Настоящее изобретение также включает все фармацевтически приемлемые изотопно-меченные формы NUC-3373, где один или несколько атомов замещены атомами, имеющими такой же атомный номер, но атомную массу или массовое число, отличное от атомной массы или массового числа преобладающего изотопа, обычно встречающегося в природе.

Примеры изотопов, подходящих для включения в соединения по изобретению, включают изотопы водорода, такие как ^2H и ^3H , углерода, такие как ^{11}C , ^{13}C и ^{14}C , хлора, такие как ^{36}Cl , фтора, такие как ^{18}F , йода, такие как ^{123}I и ^{125}I , азота, такие как ^{13}N и ^{15}N , кислорода, такие как ^{15}O , ^{17}O и ^{18}O , фосфора, такие как ^{32}P , и серы, такие как ^{35}S .

Некоторые изотопно-меченные соединения, например, те, которые включают радиоактивный изотоп, полезны в исследованиях распределения лекарственного средства

и/или субстрата в тканях. Радиоактивные изотопы тритий, т.е. ^3H , и углерод-14, т.е. ^{14}C , особенно полезны для этой цели ввиду их легкого включения и простого способа обнаружения.

Замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий, т.е. ^2H , может дать определенные терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например, увеличенным периодом полувыведения *in vivo* или сниженными требованиями к дозировке, и, следовательно, может быть предпочтительным в некоторых обстоятельствах.

Замещение позитрон-испускающими изотопами, такими как ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O и ^{13}N , может быть полезно в исследованиях методом позитронно-эмиссионной томографии (PET) для анализа занятости рецепторов субстратом.

Изотопно-меченные соединения, как правило, можно получить обычными способами, известными специалистам в данной области техники, или способами, аналогичными описанным, с использованием подходящего изотопно-меченного реагента вместо ранее использованного немеченого реагента.

Комбинации

Способ лечения или соединение для применения в лечении рака может включать, в дополнение к NUC-3373, обычную хирургию или лучевую терапию или химиотерапию. Такая химиотерапия может включать введение одного или нескольких других активных средств.

Таким образом, каждая или любая из фармацевтических композиций может содержать другое активное средство.

Одно или несколько других активных средств могут представлять собой одну или несколько из следующих категорий противоопухолевых средств:

(i) антипролиферативные/противоопухолевые лекарственные средства и их комбинации, такие как алкилирующие средства (например, циклофосфамид, азотистый иприт, бендамустин, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфан, темозоламид и нитрозомочевина); антиметаболиты (например, гемцитабин и антифолаты, такие как фторпиримидины, такие как 5-фторурацил и тегафур, ралтитрексед, метотрексат, пеметрексед, цитозин арабинозид и гидроксимочевина); антибиотики (например, антрациклины, такие как адриамицин, блеомицин, доксорубицин, дауномицин, эпирубицин, идарубицин, митомицин-С, дактиномицин и митрамицин); антимитотические средства (например, алкалоиды барвинка, такие как винкристин, винбластин, виндезин и винорелбин, и таксоиды, такие как таксол, таксотер и ингибиторы полокиназы); ингибиторы протеасом, например карфилзомиб и бортезомиб; интерфероновая терапия; и ингибиторы топоизомеразы (например, эпиподофиллотоксины, такие как этопозид и тенипозид, амсакрин, топотекан, митоксантрон и камптотецин);

(ii) цитостатические средства, такие как антиэстрогены (например, тамоксифен, фулвестрант, торемифен, ралоксифен, дролоксифен и иодоксифен), антиандрогены

(например, бикалутамид, флутамид, нилутамид и ципротерон ацетат), антагонисты LHRH или агонисты LHRH (например, гoserелин, лейпрорелин или бусерелин), прогестагены (например, мегестрол ацетат), ингибиторы ароматазы (например, анастрозол, летрозол, воразол и экземестан) и ингибиторы 5 α -редуктазы, такие как финастерид;

(iii) антиинвазивные средства, например дазатиниб и бозутиниб (SKI-606), и ингибиторы металлопротеиназы, ингибиторы функции рецептора урокиназного активатора плазминогена или антитела к гепараназе;

(iv) ингибиторы функции фактора роста: например, такие ингибиторы включают антитела к факторам роста и антитела к рецепторам факторов роста, например анти-erbB2 антитело трастузумаб [Herceptin™], анти-EGFR антитело панитумумаб, анти-erbB1 антитело цетуксимаб, ингибиторы тирозинкиназ, например ингибиторы семейства эпидермальных факторов роста (например, ингибиторы тирозинкиназы семейства EGFR, такие как gefитиниб, эрлотиниб и 6-акриламидо-N-(3-хлор-4-фторфенил)-7-(3-морфолинопропокси)-хиназолин-4-амин (CI 1033), ингибиторы тирозинкиназ erbB2, такие как лапатиниб); ингибиторы семейства факторов роста гепатоцитов; ингибиторы семейства факторов роста инсулина; модуляторы белков-регуляторов клеточного апоптоза (например, ингибиторы Bcl-2); ингибиторы семейства тромбоцитарных факторов роста, такие как иматиниб и/или нилотиниб (AMN107); ингибиторы серин/треонинкиназ (например, ингибиторы передачи сигналов Ras/Raf, такие как ингибиторы фарнезилтрансферазы, например сорафениб, типифарниб и лонафарниб), ингибиторы клеточной передачи сигналов через киназы MEK и/или АКТ, ингибиторы c-kit, ингибиторы abl-киназы, ингибиторы киназы PI3, ингибиторы киназы Plt3, ингибиторы киназы CSF-1R, ингибиторы киназы рецептора IGF; ингибиторы Аврора киназы и ингибиторы циклин-зависимой киназы, такие как ингибиторы CDK2 и/или CDK4;

(v) антиангиогенные средства, такие как те, которые ингибируют эффекты фактора роста эндотелия сосудов, [например, антитело к фактору роста эндотелиальных клеток сосудов, бевацизумаб (Avastin™); талидомид; леналидомид; и, например, ингибитор тирозинкиназы рецептора VEGF, такой как вандетаниб, ваталаниб, сунитиниб, акситиниб и пазопаниб;

(vi) геннотерапевтические подходы, включая, например, подходы для замены аберрантных генов, таких как аберрантный p53 или аберрантный BRCA1 или BRCA2;

(vii) иммунотерапевтические подходы, включая, например, терапию на основе антител, такую как алемтузумаб, ритуксимаб, ибритумомаб, тиуксетан (Zevalin®) и офатумумаб; интерфероны, такие как интерферон α ; интерлейкины, такие как IL-2 (альдеслейкин); ингибиторы интерлейкинов, например ингибиторы IRAK4; противораковые вакцины, включая профилактические и лечебные вакцины, такие как HPV вакцины, например, Гардасил, Церварикс, Онкофаг и Сипулейцел-Т (Provenge); модуляторы toll-подобного рецептора, например агонисты TLR-7 или TLR-9; ингибиторы контрольных точек, такие как анти-PD1, анти-PD-L1 и анти-CTLA моноклональные антитела, такие как: ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб, атезолизумаб, дурвалумаб

и авелумаб;

(viii) цитотоксические средства, например флударибин (флудара), кладрибин, пентостатин (Nipent™); иринотекан и оксалиплатин;

(IX), стероиды, такие как кортикостероиды, включая глюкокортикоиды и минералокортикоиды, например аклометазон, аклометазон дипропионат, альдостерон, амцинонид, беклометазон, беклометазон дипропионат, бетаметазон, бетаметазон дипропионат, бетаметазон натрий фосфат, бетаметазон валерат, будесонид, клобетазон, клобетазон бутират, клобетазол пропионат, клопреднол, кортизон, кортизон ацетат, кортивазол, дезоксикортон, дезонид, дезоксиметазон, дексаметазон, дексаметазон натрий фосфат, дексаметазон изоникотинат, дифторкортолон, флуоклоролон, флуметазон, флунизолид, флуоцинолон, флуоцинолон ацетонид, флуоцинонид, флуокортин бутил, флуокортизон, флуорокортолон, флуокортолон капроат, флуокортолон пивалат, флуорометолон, флупредниден, флупредниден ацетат, флурандренолон, флутиказон, флутиказон пропионат, галцинонид, гидрокортизон, гидрокортизон ацетат, гидрокортизон бутират, гидрокортизон ацепонат, гидрокортизон бутепрат, гидрокортизон валерат, икометазон, икометазон энбутат, мепреднизон, метилпреднизолон, мометазон параметазон, мометазон фуроат моногидрат, предникарбат, преднизолон, преднизон, тиксокортол, тиксокортол пивалат, триамцинолон, триамцинолон ацетонид, триамцинолон спирт и их соответствующие фармацевтически приемлемые производные. Можно использовать комбинацию стероидов, например комбинацию двух или более стероидов, указанных в этом параграфе;

(x) таргетные терапии, например ингибиторы PI3Kd, например иделализиб и перифозин; или соединения, которые ингибируют PD-1, PD-L1 и CAR T; и

(xi) средства, которые усиливают противораковый эффект химиотерапевтических средств, например лейковорин.

Указанные одно или несколько активных средств также могут представлять собой антибиотики.

Во всех разделах настоящего описания и в формуле изобретения слова “включают” и “содержат” и их варианты означают “включая, но не ограничиваясь этим”, и они не предназначены для исключения (и не исключают) других групп, добавок, компонентов, целых чисел или стадий. Во всех разделах настоящего описания и в формуле изобретения единственное число охватывает множественное число, если контекст не требует иного. В частности, когда используется неопределенный артикль, описание следует понимать как предполагающее множественность, а также единственность, если контекст не требует иного.

Признаки, целые числа, характеристики, соединения, химические фрагменты или группы, описанные в связи с конкретным аспектом, вариантом осуществления или примером изобретения, следует понимать как применимые к любому другому аспекту, варианту осуществления или примеру, описанным в настоящей заявке, за исключением случаев, когда они несовместимы с ними. Все признаки, раскрытые в настоящем описании

(включая любые прилагаемые пункты формулы изобретения, реферат и чертежи), и/или все из стадий любого раскрытого таким образом способа или процесса, могут быть объединены в любую комбинацию, за исключением комбинаций, где по меньшей мере некоторые из таких признаков и/или стадий являются взаимоисключающими. Изобретение не ограничивается деталями любых из описанных выше вариантов осуществления. Изобретение распространяется на любой новый признак или любую новую комбинацию признаков, раскрытых в настоящем описании (включая любые прилагаемые пункты формулы изобретения, реферат и чертежи), или на любую новую стадию или любую новую комбинацию стадий любого раскрытого способа или процесса.

Читателю следует обратить внимание на все статьи и документы, которые поданы одновременно с настоящим описанием или ранее в связи с настоящей заявкой, и которые открыты для публичного ознакомления с настоящим описанием, и содержание всех таких статей и документов включено в настоящую заявку посредством ссылки.

Изобретение далее будет описано со ссылкой на следующие Примеры и прилагаемые чертежи.

Пример 1 - Фармакокинетический анализ из исследования NuTide:301

NuTide:301 представляет собой исследование 1 фазы увеличения дозы у пациентов с прогрессирующими солидными опухолями. Все пациенты имеют метастатическое распространение. На сегодняшний день получены данные от 21 из 36 пациентов, включенных в исследование, имеющих средний возраст 57 (от 20 до 77) и прошедших в среднем три (от двух до пяти) предшествующих режимов химиотерапии. Было 10 типов первичного рака, большинство из которых (57%) являются колоректальным раком.

Пациенты получали NUC-3373, вводимый в виде 30-минутной - 2-часовой внутривенной инъекции в дни 1, 8, 15 и 22 28-дневного цикла лечения. Пациенты могут оставаться в исследовании и получать лечение до прогрессирования заболевания или возникновения неприемлемой токсичности.

NUC-3373 представлен в виде однократной внутривенной инъекции в прозрачном флаконе, содержащем 250 мг/мл NUC-3373 в растворе диметилацетамида (DMA) и физиологическом растворе в соотношении 80:20. Продукт представляет собой прозрачный раствор желтого цвета, без видимых частиц.

В исследовании всех пациентов лечили смесью 1:1 S и R эпимеров NUC-3373.

Когорты, получавшие лечение, до настоящего времени получали 125 мг/м², 250 мг/м², 500 мг/м² или 750 мг/м² NUC-3373 на введение.

Затем осуществляли фармакокинетический анализ образцов крови пациентов. Результаты показаны на Фиг. 1 и 2

Образцы крови собирали в дни 1 и 15 цикла лечения:

Образцы крови брали в 12 точках времени, указанных ниже в Таблице 1.

Таблица 1

Образец 1	T0 до введения дозы (до начала инфузии)
Образец 2	T1 (сразу после вывода лекарственного средства из инфузионной системы)
Образец 3	T1 плюс 15 минут
Образец 4	T1 плюс 30 минут
Образец 5	T1 плюс 45 минут
Образец 6	T1 плюс 1 час
Образец 7	T1 плюс 1,5 часа
Образец 8	T1 плюс 2 часа
Образец 9	T1 плюс 4 часа
Образец 10	T1 плюс 6 часов
Образец 11	T1 плюс 24 часа
Образец 12*	T1 плюс 48 часов

**Необязательный*

Обработка образцов плазмы - 4-мл вакуумный контейнер с литий гепарином

Образцы крови должны поступать в лабораторию в течение 2 часов после их взятия. 4 мл образца крови центрифугируют при 1200g при 18°C в течение 10 минут. С использованием стерильной пластиковой пипетки (пипетки Пастера) извлекают полученную плазму и переносят ~1,0 мл плазмы в каждую из 2 криопробирок (2мл).

Обработка образца РВМС - 8-мл СРТ пробирки

Образцы крови должны поступать в лабораторию в течение 2 часов после сбора. Нужно собрать 8 мл крови в пробирки СРТ (пробирки с кровью следует центрифугировать в течение 2 часов после забора крови). Повторно перемешать образец крови непосредственно перед центрифугированием, осторожно переворачивая пробирку 8-10 раз. Отрегулировать центрифугу так, чтобы начало и конец были настроены на медленное ускорение (без перерыва). Центрифугировать при 18°C в течение 20 минут при 1500 g. Осторожно удалить образец из центрифуги. Это даст пять слоев: плазма (первый); слой беловатых клеток (РВМС) [второй]; полиэфирный гель [третий]; плотный раствор [четвертый] и оставшиеся гранулоциты и эритроциты [пятый]. Аспирировать примерно половину плазмы, не нарушая клеточный слой. Собрать слой РВМС с использованием пипетки Пастера и перенести в 50-мл пробирку и добавить холодный PBS (4°C) до конечного объема 40 мл. Разделить между двумя 50-мл пробирками (по 20 мл на пробирку) и центрифугировать в течение 5 минут при 4°C и 1500 g. Слить супернатант, не нарушая клеточный осадок, и ресуспендировать клеточный осадок в остаточном буфере. Добавить 1 мл PBS к каждому клеточному осадку, чтобы собрать клетки, и перенести один клеточный осадок в 2-мл пробирку с завинчивающейся крышкой, помеченную как

“PD PBMC”, а другой в 2-мл пробирку с завинчивающейся крышкой, помеченную как “PK PBMC клеточный осадок”. Центрифугировать обе пробирки в течение 5 минут при 4°C при 1500 g. Удалить супернатант пипеткой (р 1000 мкл). Необходимо убедиться, что супернатант полностью удален из пробирки, для обеспечения хорошего качества образца. Добавить 200 мкл раствора замораживающей среды (при условии 4°C) в пробирку, помеченную как “PD PBMC”, и хранить при -80°C до анализа.

Ресуспендировать клеточные осадки в пробирке, помеченной как “PK PBMC клеточный осадок”, добавив 200 мкл 8% метанола (4°C) и осторожно пипетировать вверх и вниз 3 раза. Перемешивать вихревым способом в течение 30 секунд. Оставить образец на льду на 15 минут. Центрифугировать при 4°C в течение 5 минут при 1500 g. Используя микропипетку, аккуратно перенести 180 мкл супернатанта в 2-мл пробирку с завинчивающейся крышкой, помеченную как “PK PBMC супернатант”, не нарушая клеточный осадок. Хранить PBMC клеточный осадок и PBMC супернатант при -80°C до анализа на dTMP, TS, dUMP, FBAL и dhFU.

СВЭЖХ-МС использовали для детекции dTMP. Вестерн-блоттинг использовали для детекции TS.

СВЭЖХ-МС/МС использовали для детекции dhFU и FBAL

Фиг. 1 показывает C_{max} и AUC для NUC-3373 в плазме крови для когорт, получавших лечение. Период полужизни NUC-3373 в плазме составлял 9,7 часа. Напротив, 5FU имеет период полужизни в плазме 8-14 минут. Токсичные побочные продукты α -фтор- β -аланин (FBAL) и дигидрофтороурацил (dhFU) не обнаруживались после введения NUC-3373 в исследуемых дозах.

Фиг. 2 показывает C_{max} и AUC для внутриклеточного FUDR монофосфата для когорт, получавших лечение. Период полужизни FUDR монофосфата был определен как составляющий 14,9 часа. FUDR монофосфат все еще обнаруживался через 48 часов.

Известно, что аккумуляция dUMP в клетках приводит к повреждению ДНК, и что это повреждение ДНК связано с гибелью клеток. Таким образом, способность NUC-3373 стимулировать аккумуляцию dUMP в раковых клетках представляет собой не признанный ранее способ действия, благодаря которому NUC-3373 способен убивать раковые клетки и тем самым эффективно лечить рак.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфат (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении рака, где лечение осуществляют путем введения NUC-3373 в течение периода до 10 часов.
2. NUC-3373 для применения по п. 1, где лечение осуществляют путем введения NUC-3373 в течение периода до 5 часов.
3. NUC-3373 для применения по п. 1 или п. 2, где лечение осуществляют путем введения NUC-3373 в течение периода до 2 часов.
4. NUC-3373 для применения по п. 1, где лечение осуществляют путем введения NUC-3373 в течение периода от 1 до 2 часов, от 2 до 4 часов или от 1 до 6 часов.
5. NUC-3373 для применения по любому из предшествующих пунктов, где введение осуществляют путем непрерывной инфузии.
6. NUC-3373 для применения по п. 5, где инфузия представляет собой внутривенную инфузию.
7. NUC-3373 для применения по любому из предшествующих пунктов, где лечение осуществляют путем введения NUC-3373 способом, представляющим собой или включающим болюсное введение.
8. NUC-3373 для применения по любому из предшествующих пунктов, где рак выбран из группы, состоящей из: рака поджелудочной железы, рака молочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, других уротелиальных раков, рака желудочно-кишечного тракта (также известного как рак пищеварительного тракта), рака печени, рака легкого, рака желчных протоков, рака предстательной железы, холангиокарциномы, рака почки, нейроэндокринного рака, саркомы, лимфомы, лейкоза, рака шейки матки, рака тимуса, рака неизвестного первичного происхождения, мезотелиомы, рака надпочечников, рака матки, рака фаллопиевых труб, перитонеального рака, рака эндометрия, тестикулярного рака, рака головы и шеи, рака центральной нервной системы, базально-клеточной карциномы, болезни Боуэнса, других видов рака кожи (таких как злокачественная меланома, опухоль из клеток Меркеля и редкие опухоли придатков), плоскоклеточной неоплазии поверхности глаза и герминогенных опухолей.
9. NUC-3373 для применения по п. 8, где рак представляет собой рак желудочно-кишечного тракта, выбранный из группы, состоящей из: рака пищевода, гастрального рака, рака желудка, рака кишечника, рака тонкой кишки, рака толстой кишки, муцинозного аппендикса, карциноида из бокаловидных клеток, рака печени, рака желчных путей, рака желчного пузыря, рака анального канала и рака прямой кишки.
10. NUC-3373 для применения по любому из предшествующих пунктов, где пациент с раком также страдает синдромом «кисть-стопа».
11. NUC-3373 для применения по п. 10, где у пациента развился синдром «кисть-стопа» в результате предыдущего лечения лекарственным средством, отличным от NUC-3373.

12. NUC-3373 для применения по п. 11, где у пациента развился синдром «кисть-стопа», когда его лечили 5FU, капецитабином или тегафуром.

13. 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфат (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении рака у субъекта, который страдает синдромом «кисть-стопа».

14. NUC-3373 для применения по п. 13, где у субъекта развился синдром «кисть-стопа» после лечения фторпиримидином, таким как 5FU, капецитабин или тегафур.

15. NUC-3373 для применения по п. 13 или 14, где рак выбран из группы, состоящей из: рака поджелудочной железы, рака молочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, других уротелиальных раков, рака желудочно-кишечного тракта (также известного как рак пищеварительного тракта), рака печени, рака легкого, рака желчных протоков, рака предстательной железы, холангиокарциномы, рака почки, нейроэндокринного рака, саркомы, лимфомы, лейкоза, рака шейки матки, рака тимуса, рака неизвестного первичного происхождения, мезотелиомы, рака надпочечников, рака матки, рака фаллопиевых труб, перитонеального рака, рака эндометрия, тестикулярного рака, рака головы и шеи, рака центральной нервной системы, базально-клеточной карциномы, болезни Боуэнса, других видов рака кожи (таких как злокачественная меланома, опухоль из клеток Меркеля и редкие опухоли придатков), плоскоклеточной неоплазии поверхности глаза и герминогенных опухолей.

16. NUC-3373 для применения по любому из пп. 13-15, где рак представляет собой рак желудочно-кишечного тракта и выбран из группы, состоящей из: рака пищевода, гастрального рака, рака желудка, рака кишечника, рака тонкой кишки, рака толстой кишки, муцинозного аппендикса, карциноида из бокаловидных клеток, рака печени, рака желчных путей, рака желчного пузыря, рака анального канала и рака прямой кишки.

17. Способ выбора субъекта, страдающего раком, для лечения 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфатом (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемой солью, где способ включает определение, имеет ли субъект синдром «кисть-стопа», при этом, если субъект имеет синдром «кисть-стопа», субъекта выбирают для лечения 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфатом (NUC-3373).

18. Способ по п. 17, где у пациента развился синдром «кисть-стопа» при его лечении фторпиримидином, таким как 5FU или капецитабин.

19. 5-фтор-2'-дезоксинуридин-5'-О-[1-нафтил(бензокси-L-аланинил)]фосфат (NUC-3373) или его фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении рака у субъектов с дефицитом или частичным дефицитом дигидропиримидиндегидрогеназы (DPD).

20. NUC-3373 для применения по п. 19, где рак выбран из группы, состоящей из: рака поджелудочной железы, рака молочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, других уротелиальных раков, рака желудочно-кишечного тракта (также известного как рак пищеварительного тракта), рака печени, рака легкого, рака желчных протоков, рака

предстательной железы, холангиокарциномы, рака почки, нейроэндокринного рака, саркомы, лимфомы, лейкоза, рака шейки матки, рака тимуса, рака неизвестного первичного происхождения, мезотелиомы, рака надпочечников, рака матки, рака фаллопиевых труб, перитонеального рака, рака эндометрия, тестикулярного рака, рака головы и шеи, рака центральной нервной системы, базально-клеточной карциномы, болезни Боуэнса, других видов рака кожи (таких как злокачественная меланома, опухоль из клеток Меркеля и редкие опухоли придатков), плоскоклеточной неоплазии поверхности глаза и герминогенных опухолей.

21. NUC-3373 для применения по п. 19 или 20, где рак представляет собой рак желудочно-кишечного тракта и выбран из группы, состоящей из: рака пищевода, гастрального рака, рака желудка, рака кишечника, рака тонкой кишки, рака толстой кишки, муцинозного аппендикса, карциноида из бокаловидных клеток, рака печени, рака желчных путей, рака желчного пузыря, рака анального канала и рака прямой кишки.

22. NUC-3373 для применения по любому из пп. 19-21, где субъект имеет генетическую мутацию, выбранную из IVS14+1G>A мутации в интроне 14 наряду с делецией экзона 14 (известна как DPYD*2A), 496A>G в экзоне 6; 2846A>T в экзоне 22; и T1679G (DPYD*13) в экзоне 13.

23. NUC-3373 для применения по п. 22, где субъект имеет IVS14+1G>A DPYD вариант (DPYD*2A) мутации.

24. NUC-3373 для применения по любому из пп. 19-21, где у субъекта ранее проявлялась непереносимость 5FU или капецитабина или имеется семейная история непереносимости 5FU или капецитабина.

25. Способ оценки эффективности противораковой терапии, включающий: анализ образца мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) или раковых клеток от субъекта, принимающего противораковую терапию, для определения уровня внутриклеточного дезокситимидинмонофосфата (dTMP) в PBMC или раковых клетках, где уменьшение уровня внутриклеточного dTMP в PBMC или раковых клетках указывает на то, что противораковая терапия является эффективной.

26. Способ по п. 25, где субъект принимает противораковое лечение с использованием NUC-3373.

27. Способ по п. 25 или п. 26, где уровень внутриклеточного dTMP в PBMC или раковых клетках сравнивают с соответствующим контрольным значением.

28. Способ по любому из пп. 25-27, где уменьшение представляет собой уменьшение по меньшей мере на 25%.

29. Способ по п. 28, где уменьшение представляет собой по существу полное сокращение внутриклеточного dTMP.

30. Способ оценки эффективности противораковой терапии, включающий: анализ образца мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) или раковых клеток от субъекта, принимающего противораковую терапию, для определения уровня внутриклеточной тимидилатсинтазы (TS) в PBMC или раковых клетках, где уменьшение

уровня внутриклеточной TS в РВМС или раковых клетках указывает на то, что противораковая терапия является эффективной.

31. Способ по п. 30, где субъект принимает противораковое лечение с использованием NUC-3373.

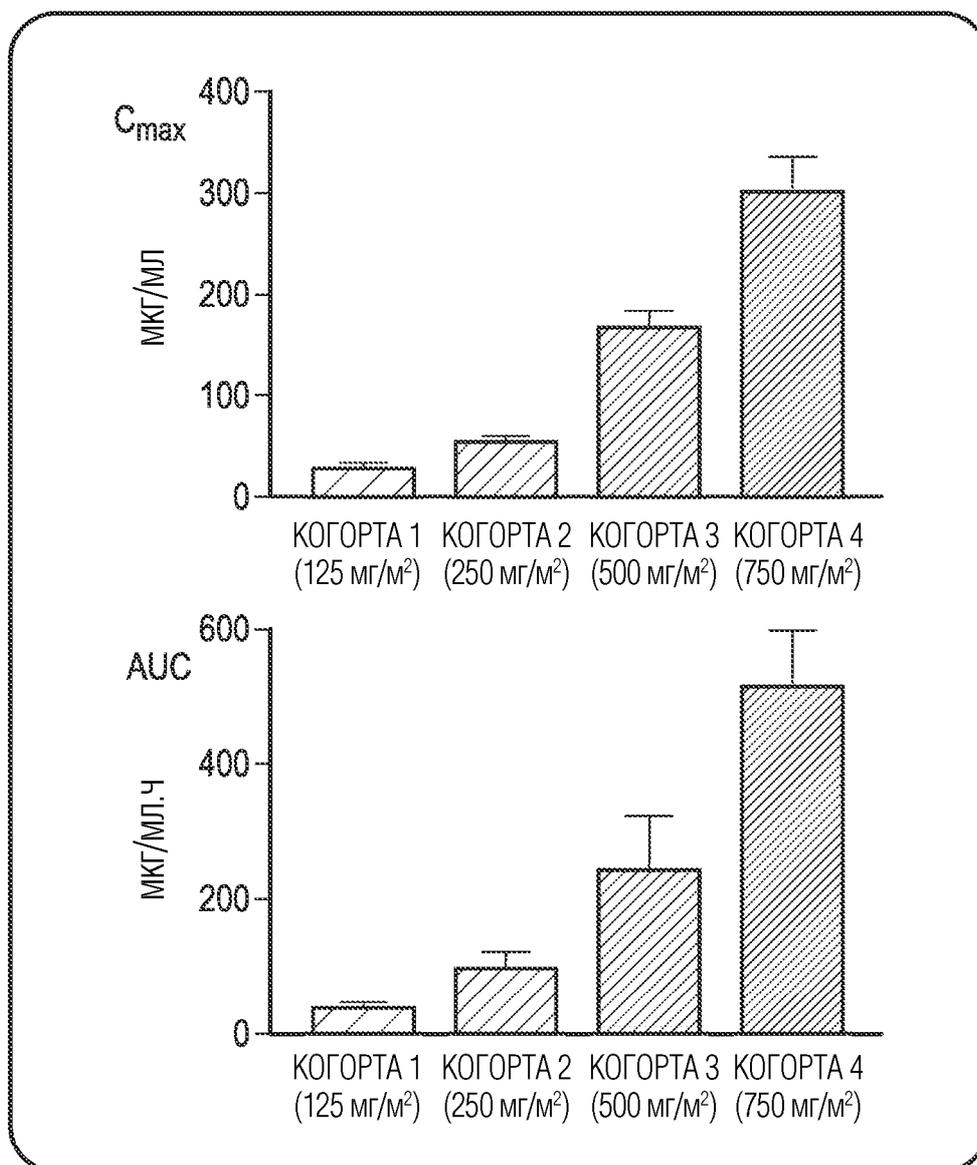
32. Способ по п. 30 или п. 31, где уровень внутриклеточной TS в РВМС или раковых клетках сравнивают с соответствующим контрольным значением.

33. Способ по любому из пп. 30-32, где уменьшение представляет собой уменьшение по меньшей мере на 25%.

34. Способ по п. 33 где уменьшение представляет собой по существу полное сокращение внутриклеточной TS.

По доверенности

1/2



ФИГ. 1

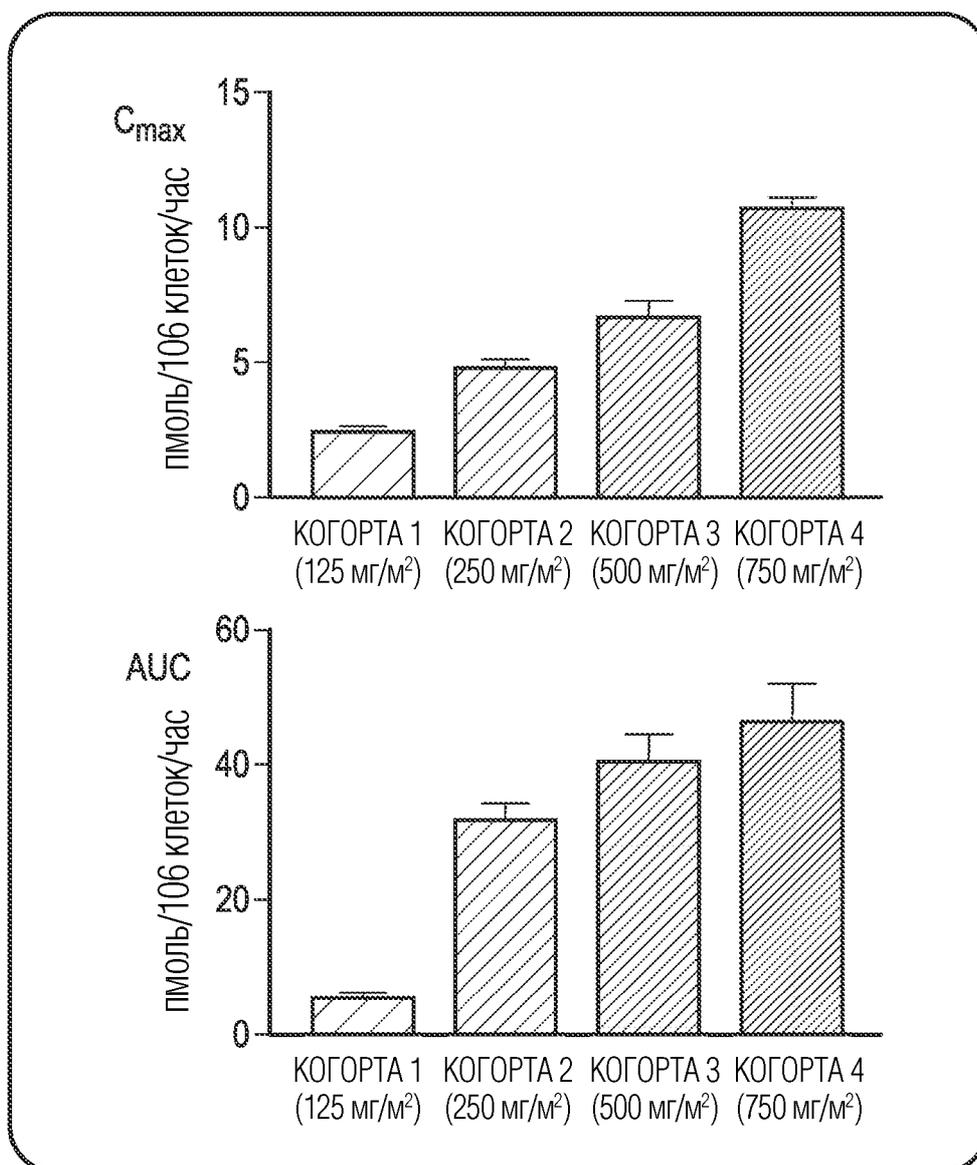


FIG. 2