

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202091751 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.11.06

(22) Дата подачи заявки
2019.01.22

(51) Int. Cl. *A61K 31/53* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

(31) 62/620,209

(32) 2018.01.22

(33) US

(86) PCT/US2019/014489

(87) WO 2019/144098 2019.07.25

(71) Заявитель:
БРИСТОЛ-МАЕРС СКВИББ
КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:

Чжао Цихун, Фаргноли Джозеф,
Гурураджан Мурали, Ви Сьюзан (US)

(74) Представитель:

Гизатуллин Ш.Ф., Глухарёва А.О.,
Строкова О.В., Угрюмов В.М. (RU)

(57) Изобретение относится к способам лечения рака у субъектов комбинацией, включающей двойной антагонист CCR2/5, такой как N-((1R,2S,5R)-5-(трет-бутиламин)-2-((S)-3-(7-трет-бутилпиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4-иламино)-2-окспирролидин-1-ил)циклогексил)ацетамид; моноклональное антитело, такое как ниволумаб; и/или химиотерапию.

A1

202091751

202091751

A1

КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

В данной заявке испрашивается приоритет предварительной заявки США № 62/620209, поданной 22 января 2018 г., раскрытие которой включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится к способам лечения рака у субъектов комбинацией двойного антагониста CCR2/5, моноклонального антитела и/или химиотерапии. В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак поджелудочной железы, колоректальный рак или их сочетание.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Аденокарцинома поджелудочной железы является третьей ведущей причиной смертности от рака в Соединенных Штатах и, по прогнозам, станет второй ведущей причиной смертности от рака к 2020 году. Пятилетняя выживаемость при раке поджелудочной железы низка: только 8% выживают через 5 лет после постановки диагноза. Исход болезни у пациентов с метастатическим поражением неблагоприятен со средней выживаемостью менее 1 года. Варианты лечения пациентов с метастатическим раком поджелудочной железы ограничены. Гемцитабин в сочетании с наб-паклитакселом одобрен для лечения пациентов первой линии (1L) с распространенным раком поджелудочной железы. Пациентов с распространенным раком поджелудочной железы можно лечить с помощью 5-фторурацила (5-FU)/липосомального иринотекана на второй линии (2L) лечения. Однако, результаты при применении данных средств, как правило, неудовлетворительны с низкой общей частотой ответа, медианной выживаемостью без прогрессирования заболевания (progression-free survival (PFS)), составляющей всего от 2 до 3 месяцев и средней общей выживаемостью (ОВ) от 6 до 7 месяцев. Хотя химиотерапия улучшает выживаемость, имеет место значительная токсичность, и все пациенты, в конечном итоге, умирают от данного заболевания. Разработка новых способов лечения рака поджелудочной железы представляет из себя область неудовлетворенной потребности.

Во всем мире рак толстой кишки (включая рак прямой кишки) является третьей по распространенности формой рака у мужчин и второй по распространенности у женщин. В 2013 году в Соединенных Штатах Америки (США) будет диагностировано, по оценкам, 142820 новых случаев колоректального рака или рака прямой кишки (colon or rectal cancer (CRC)), с приблизительно 50830 смертями из-за CRC. При первоначальном диагнозе приблизительно у 25% пациентов наблюдается метастатическое заболевание, и почти у 50% пациентов развиваются метастазы, что способствует высокой смертности пациентов с CRC. Вариантами лечения пациентов с метастатическим раком толстой или прямой кишки (metastatic colon or rectal cancer ((mCRC)) являются преимущественно схемы лечения, содержащие 5-фторурацил (5-FU), в сочетании с оксалиплатином или иринотеканом (FOLFOX или FOLFIRI) с биологическим средством, таким как бевацизумаб. Ингибиторы EGFR, цетуксимаб и панитумумаб также возможны как варианты лечения, если ген KRAS (Kirsten RAAt Sarcoma virus) имеет немутированный статус. В терапии более поздней линии регорафениб у пациентов, которые ранее получали химиотерапию, продемонстрировал улучшение общей выживаемости приблизительно на 6 месяцев. Аналогичные результаты по выживаемости были продемонстрированы для трифлурдина/типирацила. Несмотря на многочисленные варианты начального лечения mCRC, польза от таких способов лечения невелика и полные рентгенографически подтвержденные ремиссии редки, что подчеркивает необходимость более эффективных способов лечения..

Ингибиторы контрольных точек изменили лечение рака, но распространение данных преимуществ на большее количество пациентов может потребовать дополнительных подходов. Цистеин-цистеин (CC) хемокиновый рецептор 2 (CCR2) и CC-хемокиновый рецептор 5 (CCR5) представляют собой два хемокиновых рецептора, которые экспрессируются на миелоидных клетках и инфильтратах Т-клеток в микроокружении опухоли (tumor microenvironment (TME)) и, как было показано, являются ключевыми факторами миграции и накопления миелоидных клеток, включая ассоциированные с опухолью макрофаги (tumor-associated macrophages (TAM)) и клетки-супрессоры миелоидного происхождения, в TME (Mantovani, A. et al., Nat. Rev. Clin. Oncol., 2017 Jan 24. doi: 10.1038/nrclinonc.2016.217; Lesokhin, A.M. et al., Cancer Res 72(4):876-86 (2012); Schlecker, E. et al., J. Immunol., 189(12):5602-11 (2012)). Более того, было показано, что оба рецептора играют важную роль в транспорте регуляторных Т-клеток (regulatory T cells

(Treg)) в TME (Loyher, P.L. et al., *Cancer Res.*, 76(22):6483-94 (2016); Tan M.C. et al., *J. Immunol.*, 182(3):1746-55 (2009)). Помимо своей основной роли в управлении миграцией иммунных клеток в TME, недавно было показано, что ингибирование CCR5 реполяризует TAM из иммуносупрессивного фенотипа M2 в иммуноактивированный фенотип M1 (Halama, N. et al., *Cancer Cell*, 29 (4): 587-601 (2016)). Было показано, что каждый рецептор, по отдельности, играет важную роль в нескольких моделях рака, включая рак поджелудочной железы (Sanford, D.E. et al., *Clin. Cancer Res.*, 19(13):3404-15 (2013); Tan M.C. et al., *J. Immunol.*, 182(3):1746-55 (2009)), рак толстой кишки (Afik, R. et al., *J. Exp. Med.*, 213 (11): 2315-31 (2016); Tanabe, Y. et al., 7 (30): 48335-45 (2016)), рак печени (Li, X. et al., *Gut*, 66 (1): 157-67 (2017); Barashi, N. et al., *Hepatology*, 58 (3): 1021-30 (2013)) и рак легких (Schmall, A. et al., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 191 (4): 437-47 (2015); Lee, N.J. et al., *Carcinogenesis*, 33(12):2520-8 (2012)). CCR2-селективные и CCR5-селективные антагонисты показали, в комбинации с химиотерапией, положительные клинические ответы, тем самым подтвердив механизм, у пациентов с раком поджелудочной железы и колоректальным раком, соответственно (Nywening, T.M. et al., *Lancet Oncol.*, 17(5):651-62 (2016); Halama, N. et al., *Cancer Cell* 29(4):587-601 (2016)).

О применении двойного антагониста CCR2/5 в сочетании с антителом против PD-1 и/или химиотерапией еще не сообщалось, и такое применение представляет собой новый подход с потенциалом для расширения преимуществ иммуноонкологии на пациентов, которым существующие терапевтические способы не обеспечивают адекватного лечения. Кроме того, таргетная терапия многочисленных недублирующихся молекулярных путей, регулирующих иммунные ответы, может усиливать противоопухолевую иммунотерапию. Сохраняется потребность в комбинированных терапиях с приемлемым профилем безопасности и высокой эффективностью, которые усиливают противоопухолевые иммунные ответы по сравнению с монотерапией и другими иммунотерапевтическими комбинациями.

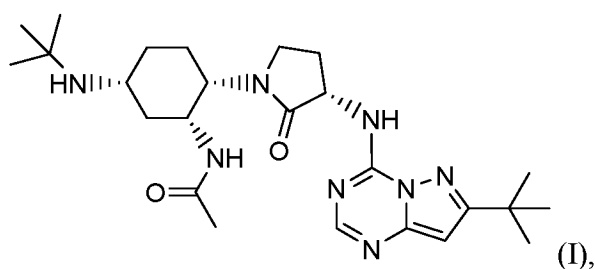
СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение, помимо прочего, направлено на способы лечения рака у субъекта, включающие введение субъекту комбинации двойного антагониста CCR2/5, моноклонального антитела и/или химиотерапии.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой колоректальный рак, рак поджелудочной железы, рак печени и рак легких или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы.

В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело представляет собой антитело против PD-1. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 перекрестно конкурирует с ниволумабом за связывание с человеческим PD-1. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 связывается с тем же эпитопом, что и ниволумаб. В определенных вариантах осуществления антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб.

В некоторых вариантах осуществления двойной антагонист CCR2/5 представляет собой эквипотентный двойной антагонист хемокиновых рецепторов CCR2 и CCR5. В некоторых вариантах осуществления двойной антагонист CCR2/5 представляет собой соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, или их комбинацию,



N-((1R,2S,5R)-5-(*трет*-бутиламино)-2-((S)-3-(7-*трет*-бутилпиразоло[1,5-а][1,3,5]триазин-4-иламино)-2-оксопирролидин-1-ил)циклогексил)ацетамид.

В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтические средства выбраны из наб-паклитаксела, гемцитабина, 5-фторурацила (5-FU), лейковорина и иринотекана.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

ФИГ. 1 иллюстрирует синергическую комбинацию соединения А с антителом В против прогрессирования опухоли (МС38) толстой кишки мыши.

ФИГ. 2 иллюстрирует синергическую комбинацию соединения А с антителом В против прогрессирования опухоли (МС38) толстой кишки мыши.

ФИГ. 3 иллюстрирует синергическую комбинацию соединения А с антителом В против прогрессирования опухоли (СТ26) толстой кишки мыши.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

Настоящее раскрытие можно легче понять, обратившись к нижеследующему подробному описанию, взятому вместе с прилагаемыми фигурами и примерами, которые составляют часть данного раскрытия. Следует понимать, что данное изобретение не ограничивается конкретными устройствами, способами, приложениями, условиями или параметрами, описанными и/или показанными в данном документе, и что терминология, используемая в данном документе, предназначена для описания конкретных вариантов осуществления только в качестве примера и не предназначена для ограничения заявленного изобретения. Кроме того, как используется в описании, включая прилагаемую формулу изобретения, формы единственного числа включают множественное число, и ссылка на конкретное числовое значение включает, по меньшей мере, данное конкретное значение, если контекст явно не диктует иначе.

Термин «и/или», используемый в данном документе, следует понимать как конкретное раскрытие каждой из двух указанных особенностей или компонентов с другим или без другого. Таким образом, термин «и/или», используемый в данном документе во фразе, такой как «А и/или В», предназначен для включения «А и В», «А или В», «А» (только) и «В» (только). Подобным образом, термин «и/или», используемый во фразе, такой как «А, В и/или С», предназначен для охвата каждого из следующих аспектов: А, В и С; А, В или С; А или С; А и В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (только); В (только); и С (только).

Используемый в описании и формуле изобретения термин «содержащий» может включать варианты осуществления «состоящий из» и «состоящий по существу из». Термины «содержат (содержит)», «включают (включает)», «имеющий», «имеет», «может», «содержат (содержит)» и их варианты, используемые в данном документе, предназначены для неограниченного использования как переходные фразы, термины или слова, которые требуют присутствия названных ингредиентов/стадий и допускают присутствие других

ингредиентов/стадий. Однако, такое описание следует истолковывать как также описывающее композиции или процессы как «состоящие из» и «состоящие по существу из» перечисленных соединений, что допускает присутствие только названных соединений, наряду с любыми фармацевтически носителями, и исключает другие соединения.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в данной области техники, к которой относится данное раскрытие. Например, the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; и the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press предоставляют специалистам общий словарь многих терминов, используемых в данном раскрытии.

Единицы, префиксы и символы обозначаются в их принятой *Système International de Unites* (SI) форме. Числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон. Заголовки, представленные в данном документе, не являются ограничениями различных аспектов раскрытия, которое может быть получено посредством ссылки на описание в целом. Соответственно, термины, определенные непосредственно ниже, более полно определены со ссылкой на спецификацию в целом.

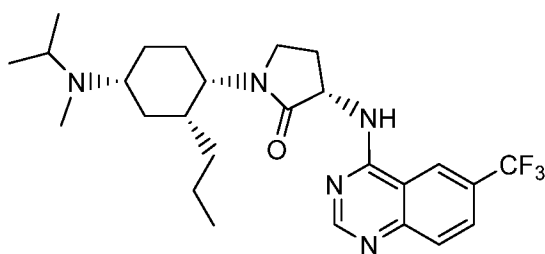
Все диапазоны, раскрытые в данном документе, включают указанную конечную точку и могут независимо комбинироваться (например, диапазон «от 200 мг до 600 мг» включает конечные точки, 200 мг и 600 мг, а также все промежуточные значения). Конечные точки диапазонов и любых значений, раскрытых в данном документе, не ограничиваются точным диапазоном или значением; они достаточно неточны, чтобы включать значения, приближенные к данным диапазонам и/или значениям.

Используемые в данном документе выражения, обозначающие приблизительность, могут применяться для модификации любого количественного представления, которое может варьировать, не приводя к изменению основной функции, с которой оно связано. Соответственно, значение, модифицированное термином или терминами, такими как «около» и «существенно», в некоторых случаях может не ограничиваться точным указанным значением. По меньшей мере, в некоторых случаях выражение, обозначающее приблизительность, может соответствовать точности прибора для измерения значения. Модификатор «около» также следует рассматривать как раскрывающий диапазон, определяемый абсолютными значениями двух конечных точек. Например, выражение «от

около 100 до около 200» также раскрывает диапазон «от 100 до 200». Термин «около» может относиться к плюс или минус 10% от указанного числа. Например, «около 10%» может означать диапазон от 9% до 11%, и «около 1» может означать от 0,9 до 1,1. Другие значения «около» могут быть очевидны из контекста, такие как округление, поэтому, например, «около 1» также может означать от 0,5 до 1,4.

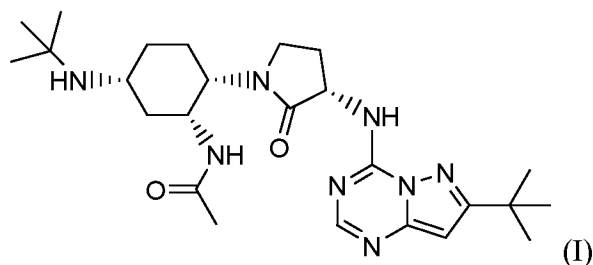
Термин «двойной антагонист CCR2/5» относится к низкомолекулярному антагонисту, который эффективно связывается с рецепторами CCR2 и CCR5 и проявляет мощное двойное ингибирование функций, опосредованных рецептором *in vitro*, таких как CCR2- и CCR5-опосредованные функции, такие как поток кальция и хемотаксис, в ответ на их соответствующие родственные лиганды. Соединения, обладающие двойной ингибирующей активностью против CCR2/5, описаны, например, в патенте США № 8,383,812 и патенте США № 7,163,937.

Патент США № 7,163,937 (включенный в данный документ посредством ссылки) описывает двойные антагонисты CCR2/5, включая (S)-1-((1S,2R,4R)-4-(изопропил(метил)амино)-2-пропилциклогексил)-3-((6-(трифторметил)хиназолин-4-ил)амино)пирролидин-2-он (в дальнейшем именуемый соединением А). Структура соединения А представляет собой:



Соединение А

Патент США № 8,383,812 (включенный в данный документ в качестве ссылки) описывает двойные антагонисты CCR2/5, включая соединение формулы (I):



(I)

N-((1R,2S,5R)-5-(*трет*-бутиламино)-2-((S)-3-(7-*трет*-бутилпиразоло[1,5-а][1,3,5]триазин-4-иламино)-2-оксопирролидин-1-ил)циклогексил)ацетамид (в дальнейшем именуемый соединением С).

Как показано, например, соединение А эффективно блокирует связывание CCL2 (также известного как MCP-1), лиганда для CCR2, с экспрессирующими CCR2 мышинными клетками; эффективно блокирует мышинный CCL4 (также известный как MIP-1 β), лиганд для CCR5, с экспрессирующими CCR5 мышинными клетками; эффективно ингибирует индуцированные мышинным CCL2 и мышинным CCL4 функции (поток кальция, повышающая регуляция интегрина CD11b); и фармакологически связано с соединением С (таблица 1).

Таблица 1. Эффективность соединения А в отношении мышинового CCR2/5 по сравнению с эффективностью соединения С в отношении человека

Анализ	Фармакология Соединения А у мыши		Фармакология Соединения С у человека	
	CCR2- эффективность (нМ)	CCR5- эффективность (нМ)	CCR2- эффективность (нМ)	CCR5- эффективность (нМ)
Связывание с CCR2- или CCR5-экспрессирующими клетками (замещение ¹²⁵ I-меченного лиганда)	0,8	0,4	6,2	3,6
Индукцированный лигандом поток кальция в клетки	0,7	0,4	2,9	2,0
Индукцированная лигандом повышающая регуляция	13,0	5,7	4,8	5,7

интегрин в цельной крови				
-----------------------------	--	--	--	--

Анализ ингибирования связывания лиганда с клетками, экспрессирующими CCR2, и с клетками, экспрессирующими CCR5

Анализ связывания CCR2 и CCR5 человека проводили с моноклеарными клетками периферической крови человека (human peripheral blood mononuclear cells (hPBMC)) и Т-клетками человека с использованием ¹²⁵I-человеческого MCP-1 и –человеческого MIP-1beta в качестве индикаторного лиганда, соответственно, hPBMC и человеческие Т-клетки были выделены из лейкопак (обогащенного продукта лейкофереза, собранного из периферической крови) человека с использованием стандартных протоколов. Выделенные клетки (hPBMCs для связывания CCR2 и человеческие Т-клетки для связывания CCR5) промывали и разбавляли до 1х10⁷/мл в связывающем буфере (RPMI-1640, 0,1% BSA, 20 mM Hepes, pH 7,4). ¹²⁵I-MCP-1 и –MIP-1beta (NEN/Perk Elmer) разбавляли до 0,45 нМ в связывающем буфере. Соединение С разводили в связывающем буфере до концентраций, в три раза превышающих конечные концентрации, использовавшиеся в анализе связывания. Анализ связывания проводили с использованием 96-луночного фильтровального планшета (Millipore). Суммарное ¹²⁵I-MCP-1 и -MIP-1beta связывание оценивали следующим образом: каждая реакционная смесь (150 мкл) содержала 5х10⁵ клеток, 0,15 нМ ¹²⁵I-MCP-1 или -MIP-1beta, и соединение С таким образом, что конечная концентрация составляла от 0 до 100 нМ. Планшет инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут с последующими тремя промывками с RPMI-1640, 0,1% BSA, 0,4 M NaCl, 20 mM Hepes, pH 7,4, используя фильтрацию в вакуумном коллекторе (Millipore). После промывки планшеты сушили на воздухе в течение 60 минут при комнатной температуре, с последующим добавлением 25 мкл Microscint 20 в каждую лунку. Планшет герметизировали и считали на сцинтилляционном счетчике Trilux в течение 1 минуты. Неспецифическое связывание определяли в присутствии 300 нМ холодного MCP-1 и MIP-1beta (PeproTech Inc.). Специфическое связывание ¹²⁵I-MCP-1 и -MIP-1beta рассчитывали как разницу между суммарным и неспецифическим связыванием. Все условия были протестированы в двух повторах. IC₅₀ определяется как концентрация конкурирующего соединения С, необходимая для снижения специфического связывания на 50%.

Анализы ингибирования связывания мышинового лиганда с мышинными CCR2 и CCR5 проводили аналогично анализу с человеческими лигандами, за исключением того, что линию моноцитов мыши WEHI-231 и клетки L1.2, стабильно экспрессирующие мышинный CCR5, использовали в качестве источников клеток, экспрессирующих мышинный CCR2- и мышинный CCR5, соответственно, и мышинные MCP-1 и –MIP-1beta использовали в качестве индикаторных лигандов для мышинных CCR2 и CCR5, соответственно.

Анализ ингибирования CCR2- и CCR5-опосредованного потока кальция в клетках

Связывание MCP-1 с CCR2 или связывание MIP-1beta с CCR5 приводит к каскаду путей передачи сигналов, связанных с G-белком. Одним из них является мобилизация кальция, который важен для последующих клеточных функций, таких как повышающая регуляция и активация интегрина (CD11b). Мобилизация внутриклеточного кальция может быть измерена в планшетном ридере для считывания флуориметрических изображений (Fluorometric Imaging Plate Reader (FLIPR)) как увеличение флуоресценции, испускаемой кальций-связывающим флуорофором (например, флуо-3), когда клетки, предварительно загруженные флуорофором, стимулируются MCP-1.

Анализ опосредованного человеческим CCR2 внутриклеточного потока кальция проводили с линией моноцитарных клеток человека THP-1. Клетки THP-1 сначала загружали флуорофором путем ресуспендирования их в глюкозо- и HEPES-забуференном PBS (pH 7,4), содержащем 4 мкМ флуо-3 (fluo-3) (Molecular Probes) и 1,25 мМ пробенецида, и затем инкубировали в течение 60 минут при 37 °C. После однократной промывки для удаления избытка флуо-3 клетки ресуспендировали в промывочном буфере (содержащем RPMI без фенолового красного) с 1,25 мМ пробенецидом и помещали в 96-луночный планшет при 2×10^5 /лунку. Разведения соединения С с диапазоном концентраций от 0 до 100 нМ или только буфер добавляли в каждую лунку, центрифугировали и инкубировали в течение 10 минут. Планшет помещали в FLIPR-1™ (Molecular Devices), который использует ионный аргонный лазер для возбуждения клеток и автоматически добавляет человеческий MCP-1, отслеживая изменения флуоресценции. Затем добавляли рекомбинантный человеческий MCP-1 (PeproTech Inc.) до конечной концентрации 10 нМ. Сдвиг флуоресценции отслеживался с автоматической регистрацией перепада значений от базовой линии до пика. Все образцы были протестированы в двух повторях. Ингибирование, достигаемое ступенчатыми концентрациями соединения, рассчитывали как процент от

контрольного образца с MCP-1, не содержащего соединения. Была принята процедура, аналогичная описанной выше, за исключением того, что лигандом служил MIP-1beta (50 нМ) и клеточная линия представляла собой HT1080/CCR5, в которой экспрессия эндогенного CCR5 повышается с помощью технологии случайной активации экспрессии гена (random activation of gene expression (RAGE)).

Анализы ингибирования потока кальция, опосредованного мышинными CCR2 и CCR5, в ответ на их соответствующий лиганд проводили аналогично анализам с человеческими лигандами за исключением того, что линию моноцитов мыши WEHI-231 и клетки L1.2, стабильно экспрессирующие мышинный CCR5, использовали в качестве источников клеток, экспрессирующих мышинный CCR2 и мышинный CCR5, соответственно, и мышинные MCP-1 и –MIP-1beta использовали в качестве индикаторных лигандов для мышинных CCR2 и CCR5, соответственно.

Анализ ингибирования CCR2- и CCR5-опосредованной повышающей регуляции интегрина CD11b в цельной крови

Анализ CCR2-зависимой повышающей регуляции CD11b проводился с использованием цельной крови человека. Цельную кровь (100 мкл) предварительно инкубировали с соединением С в диапазоне концентраций при 37 °С в течение 10 минут. Человеческий рекомбинантный MCP-1 (10 мкл из 100 нМ) затем добавляли к каждой реакционной смеси до конечной концентрации 10 нМ, за исключением нестимулированных контрольных реакционных смесей. Реакционные смеси инкубировали 30 минут при 37 °С. После инкубации добавляли 1 мл охлажденного льдом буфера FACS (PBS с 10% FBS), и образцы центрифугировали при 1500 оборотах в минуту в течение 5 минут и повторно суспендировали в 50 мкл буфера FACS. Затем клетки инкубировали с 20 мкл раствора анти-CD14-FITC/анти-CD11b-PE в течение 20 минут на льду в темноте с последующим добавлением 1 мл лизирующего раствора 1x FACS (Becton Dickinson) в каждую реакционную смесь. Затем образцы инкубировали в течение 30 минут на льду в темноте. После фиксации и лизиса эритроцитов клетки центрифугировали и повторно суспендировали в 200 мкл FACS-лизирующего раствора. Образцы анализировали проточной цитометрией в течение 1 часа после окрашивания с использованием проточного цитометра FACSCalibur™. Сбор данных и анализ выполняли с использованием программного обеспечения CellQuestPro™. Стратегию последовательного стробирования

использовали для анализа популяции моноцитов CD14^{high} CD11b⁺. Для анализа CD11b измеряли как среднюю интенсивность флуоресценции (median fluorescence intensity (MFI)). Подобная процедура была принята для мышинового CCR5, за исключением того, что в качестве лиганда использовали MIP-1beta (50 нМ).

Анализ повышающей регуляции CD11b, зависимой от мышинового CCR2, проводили с цельной кровью мышей C57BL/6. Цельную кровь (100 мкл) предварительно инкубировали с соединением С в диапазоне концентраций при 37 °С в течение 30 минут. Затем к каждой реакционной смеси добавляли рекомбинантный мышиный MCP-1 до конечной концентрации 10 нМ, за исключением нестимулированных контрольных реакционных смесей. Реакционные смеси инкубировали в течение 15 минут при 37 °С. После инкубации добавляли 1 мл охлажденного льдом буфера FACS (PBS с 10% FBS), и образцы центрифугировали при 1500 оборотах в минуту в течение 5 мин и ресуспендировали в 50 мкл буфера FACS. Затем клетки инкубировали с 20 мкл раствора анти-F4/80-PE/анти-мышинового CD11b-APC в течение 20 минут на льду в темноте с последующим добавлением 1 мл лизирующего раствора 1x FACS (Becton Dickinson) в каждую реакционную смесь. Затем образцы инкубировали в течение 20 минут на льду в темноте. После фиксации и лизиса эритроцитов клетки центрифугировали и повторно суспендировали в 200 мкл FACS-лизирующего раствора. Образцы анализировали проточной цитометрией в течение 1 часа после окрашивания с использованием проточного цитометра FACSCalibur™. Сбор данных и анализ выполняли с использованием программного обеспечения Flowjo. Стратегию последовательного стробирования использовали для анализа популяции моноцитов F4/80⁺ CD11b⁺. Для анализа CD11b измеряли как среднюю интенсивность флуоресценции (MFI). Аналогичная процедура для мышинового CCR5 была принята, как описано для мышинового CCR2, за исключением того, что лигандом был мышиный MIP-1beta (50 нМ).

Поскольку соединение С имеет низкие РК-показатели для мыши и низкую эффективность в отношении мышинового CCR2, соединение А использовали в качестве мышинового суррогата двойного антагониста CCR2/5 для оценки в качестве монотерапии и в комбинации с антителом против PD1 на мышиных моделях опухоли.

Некоторые варианты осуществления относятся к способам лечения рака у субъекта, включающим введение субъекту комбинации моноклонального антитела, двойного антагониста CCR2/5 и/или химиотерапии.

Некоторые варианты осуществления относятся к способам лечения рака у субъекта, включающим введение субъекту комбинации моноклонального антитела и двойного антагониста CCR2/5.

Некоторые варианты осуществления относятся к комбинации моноклонального антитела, двойного антагониста CCR2/5 и/или химиотерапии для применения в лечении рака.

Некоторые варианты осуществления относятся к комбинации моноклонального антитела и двойного антагониста CCR2/5 для применения в лечении рака.

В некоторых вариантах осуществления описанная в данном документе комбинация может включать введение более чем одного моноклонального антитела.

В некоторых вариантах осуществления двойной антагонист CCR2/5 представляет собой соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, или их комбинацию, которую вводят субъекту в виде одной суточной дозы, или общая суточная доза может быть введена в разделенных дозах два, три или четыре раза в день. В некоторых вариантах осуществления общая суточная доза вводится в виде одной суточной дозы или два раза в день. Количество соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли может составлять от около 100 мг в день до около 1200 мг в день. Так, например, количество соединения формулы (I), вводимое субъекту, может составлять около 10, 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100 и 1200 мг в день. В некоторых вариантах осуществления количество соединения формулы (I), вводимое субъекту, может составлять от около 10 мг до около 1200 мг в день; от около 25 мг до около 1200 мг в день; от около 50 мг до около 1200 мг в день; от около 100 мг до около 1200 мг в день; от около 200 мг до около 1200 мг в день; от около 300 мг до около 1200 мг в день; от около 300 мг до около 1200 мг в день; от около 400 мг до около 1200 мг в день; от около 500 мг до около 1200 мг в день; от около 600 мг до около 1200 мг в день. В некоторых вариантах осуществления количество соединения формулы (I), вводимое субъекту, может составлять от около 10 мг до около 600 мг в день; от около 25 мг до около 600 мг в день; от около 50 мг до около 600 мг в день; от около 100 мг до около 600 мг в день; от около 200 мг до около 600 мг в день; от около 300 мг до около 600 мг в день. В некоторых вариантах осуществления количество соединения формулы (I), вводимое субъекту, может составлять от около 10 мг до около 300 мг в день; от около 25 мг до около 300 мг в день; от около 50 мг до около 300 мг в день; от около 100 мг до около 300 мг в день; от около 200 мг до около 400 мг в день. В некоторых

вариантах осуществления количество соединения формулы (I) вводят в дозах 300 и 600 мг один или два раза в день.

Количества соединения формулы (I), описанные в данном документе, основаны на свободной форме соединения формулы (I), то есть несолевой форме. Если вводят соли, количество необходимо рассчитывать как зависимость отношения молекулярной массы между солью и свободной формой.

«Фармацевтически приемлемый» означает одобренный или утвержденный регулирующим органом федерального правительства или правительства штата или соответствующего агентства в странах, отличных от США, или перечисленный в Фармакопее США или другой общепризнанной фармакопее для применения на животных и, более конкретно, на людях.

«Фармацевтически приемлемая соль» относится к соли соединения согласно настоящему описанию, которая является фармацевтически приемлемой и обладает желаемой фармакологической активностью исходного соединения. В частности, такие нетоксичные соли могут быть солями присоединения неорганических или органических кислот и солями присоединения оснований. В частности, такие соли включают: (1) кислотно-аддитивные соли, образованные с неорганическими кислотами, такими как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота и тому подобное; или образованные с органическими кислотами, такими как уксусная кислота, пропионовая кислота, гексановая кислота, цикlopentanепропионовая кислота, гликолевая кислота, пировиноградная кислота, молочная кислота, малоновая кислота, янтарная кислота, яблочная кислота, малеиновая кислота, фумаровая кислота, винная кислота, лимонная кислота, бензойная кислота, кислота, 3-(4-гидроксibenzoил)бензойная кислота, коричная кислота, миндальная кислота, метансульфоновая кислота, этансульфоновая кислота, 1,2-этандисульфоновая кислота, 2-гидроксиэтансульфоновая кислота, бензолсульфоновая кислота, 4-хлорбензолсульфоновая кислота, 2-нафталинсульфоновая кислота, 4-толуолсульфоновая кислота, камфорсульфоновая кислота, 4-метилбицикло[2.2.2]-окт-2-ен-1-карбоновая кислота, глюкогоптоновая кислота, 3-фенилпропионовая кислота, триметилауксусная кислота, трет-бутилуксусная кислота, лаурилсерная кислота, глюконовая кислота, глутаминовая кислота, гидроксинафтойная кислота, салициловая кислота, стеариновая кислота, муконовая кислота и тому подобное; или (2) соли, образованные, когда кислотный протон, присутствующий в

исходном соединении, либо заменен ионом металла, например, ионом щелочного металла, ионом щелочноземельного металла или ионом алюминия; либо координируется с органическим основанием, таким как этаноламин, диэтанолламин, триэтанолламин, N-метилглюкамин и тому подобное. Соли дополнительно включают, только в качестве примера, натрий, калий, кальций, магний, аммоний, тетраалкиламмоний и тому подобное; и когда соединение содержит основную функциональную группу, соли нетоксичных органических или неорганических кислот, таких как гидрохлорид, гидробромид, тартрат, мезилат, ацетат, малеат, оксалат и тому подобное.

Обычно такие соли могут быть получены взаимодействием свободных кислотных или основных форм данных соединений со стехиометрическим количеством подходящего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе, или в их смеси; обычно предпочтительны неводные среды, такие как эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил. Списки подходящих солей можно найти в Allen, Jr., L.V., ed., *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 22nd Edition, Pharmaceutical Press, London, UK (2012).

«Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество» относится к разбавителю, адьюванту, вспомогательному веществу или носителю, с которым вводят соединение по изобретению. «Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество» относится к веществу, которое нетоксично, биологически переносимо и в других отношениях биологически пригодно для введения субъекту, такому как инертное вещество, добавляемое к фармакологической композиции или иным образом используемое в качестве связующего вещества, носителя или разбавителя для облегчения введения средства, совместимого с ним. Примеры вспомогательных веществ включают карбонат кальция, фосфат кальция, различные сахара и типы крахмала, производные целлюлозы, желатин, растительные масла, стеараты, диоксид кремния, поливиниловые спирты, смазку, тальк, диоксид титана, оксид железа и полиэтиленгликоли.

«Субъект» включает людей. Термины «человек», «пациент» и «субъект» используются в данном документе взаимозаменяемо.

«Лечить» или «лечение» любого заболевания или нарушения относится, в одном варианте осуществления, к облегчению заболевания или нарушения (т.е. к остановке или уменьшению развития заболевания или по меньшей мере одного из его клинических симптомов). В другом варианте осуществления «лечить» или «лечение» относится к улучшению по меньшей мере одного физического параметра, который может быть

незаметен субъектом. В еще одном варианте осуществления «лечить» или «лечение» относится к модуляции заболевания или нарушения либо физически (например, стабилизация различного симптома), либо физиологически (например, стабилизация физического параметра), либо к тому и другому. В еще одном варианте осуществления «лечить» или «лечение» относится к отсрочке начала заболевания или нарушения.

Термин «антитело» и подобные термины понимается в широком смысле и включает молекулы иммуноглобулина, включая моноклональные антитела (такие как мышинные, человеческие, адаптированные к человеку, гуманизированные и химерные моноклональные антитела), фрагменты антител, биспецифические или мультиспецифические антитела, димерные, тетрамерные или мультимерные антитела и одноцепочечные антитела. Иммуноглобулины можно отнести к пяти основным классам, а именно, IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, в зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелой цепи. IgA и IgG дополнительно подразделяются на изотипы IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Легкие цепи антител любого вида позвоночных могут быть отнесены к одному из двух четко различающихся типов, а именно к каппа (κ) и лямбда (λ), на основании аминокислотных последовательностей их константных доменов.

«Моноклональное антитело» относится к популяции молекул антитела с одним молекулярным составом. Композиция моноклонального антитела демонстрирует единственную специфичность связывания и сродство к конкретному эпитопу или, в случае биспецифического моноклонального антитела, двойную специфичность связывания с двумя различными эпитопами. Следовательно, моноклональное антитело относится к популяции антител с одним аминокислотным составом в каждой тяжелой и каждой легкой цепи, за исключением возможных хорошо известных изменений, таких как удаление С-концевого лизина из тяжелой цепи антитела. Моноклональные антитела могут иметь гетерогенное гликозилирование в популяции антител. Моноклональное антитело может быть моноспецифическим или мультиспецифическим, или моновалентным, двухвалентным или поливалентным. Биспецифическое антитело входит в термин моноклональное антитело.

Антитела к PD-1, применимые для изобретения

Любое антитело против PD-1, известное в данной области, можно использовать в описанных в данном документе способах. В частности, в патенте США № 8,008,449 описаны различные человеческие моноклональные антитела, которые специфически связываются с

PD-1 с высокой аффинностью. Было продемонстрировано, что каждое из гуманизированных антител против PD-1, раскрытых в патенте США № 8,008,449, проявляет одну или несколько из следующих характерных особенностей: (а) связывается с PD-1 человека с K_D , равной 1×10^{-7} М или менее, как определено поверхностным плазмонным резонансом с использованием биосенсорной системы Biacore; (b) практически не связывается с человеческими CD28, CTLA-4 или ICOS; (c) увеличивает пролиферацию Т-клеток в анализе смешанной реакции лимфоцитов (Mixed Lymphocyte Reaction (MLR)); (d) увеличивает продукцию интерферона- γ в анализе MLR; (e) увеличивает секрецию IL-2 в анализе MLR; (f) связывается с PD-1 человека и PD-1 яванского макака; (g) ингибирует связывание PD-L1 и/или PD-L2 с PD-1; (h) стимулирует антиген-специфические реакции памяти; (i) стимулирует ответы антител; и (j) ингибирует рост опухолевых клеток *in vivo*. Антитела против PD-1, используемые в настоящем изобретении, включают моноклональные антитела, которые специфически связываются с PD-1 человека и проявляют по меньшей мере одну, в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере пять из предыдущих характерных особенностей.

Другие моноклональные антитела против PD-1 описаны, например, в патентах США №№ 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 и 8,354,509, публикации США № 2016/0272708 и публикациях PCT №№ WO 2012/145493, WO 2008/156712, WO 2015/112900, WO 2012/145493, WO 2015/112800, WO 2014/206107, WO 2015/35606, WO 2015/085847, WO 2014/179664, WO 2017/020291, WO 2017/020858, WO 2016/197367, WO 2017/024515, WO 2017/025051, WO 2017/123557, WO 2016/106159, WO 2014/194302, WO 2017/040790, WO 2017/133540, WO 2017/132827, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/106061.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбрано из ниволумаба (также известного как «OPDIVO»; ранее обозначенного как 5C4, BMS-936558, MDX-1106 или ONO-4538), пембролизумаба (Merck, также известного как «KEYTRUDA», ламбролизумаб и MK-3475. См. WO 2008/156712), PDR001 (Novartis; см. WO 2015/112900), MEDI-0680 (AstraZeneca; AMP-514; см. WO 2012/145493), цемиплимаба (REGN-2810) (Regeneron; см. WO 2015/112800), JS001 (TAIZHOU JUNSHI PHARMA; см. Si-Yang Liu et al., *J. Hematol. Oncol.* 10: 136 (2017)), BGB-A317 (Beigene; см. WO 2015/35606 и US 2015/0079109), INCSHR1210 (SHR-1210; Jiangsu Hengrui Medicine; см. WO 2015/085847; Si-Yang Liu et al., *J. Hematol. Oncol.* 10: 136 (2017)), TSR-042 (ANB011; Tesaro Biopharmaceutical; см. WO2014/179664), GLS-010 (WBP3055; Wuxi/Harbin Gloria

Pharmaceuticals; см. Si-Yang Liu et al., *J. Hematol. Oncol.* 10: 136 (2017)), AM-0001 (Armo), STI-1110 (Sorrento Therapeutics; см. WO 2014/194302), AGEN2034 (Agenus; см. WO 2017/040790), MGD013 (MacroGenics) и IBI308 (Innovent; см. WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825, WO2017/133540).

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб. Ниволумаб представляет собой полностью человеческое антитело IgG4 (S228P) PD-1, ингибирующее иммунную контрольную точку, которое избирательно предотвращает взаимодействие с лигандами PD-1 (PD-L1 и PD-L2), тем самым, блокируя подавление функций противоопухолевых Т-клеток (Патент США № 8,008,449; Wang *et al.*, 2014 *Cancer Immunol Res.* 2 (9): 846-56).

В других вариантах осуществления антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG4, направленное против рецептора PD-1 на поверхности клеток человека (запрограммированная смерть-1 или запрограммированная смерть-1 клеток). Пембролизумаб описан, например, в патентах США №№ 8,354,509 и 8,900,587; см. также www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=695789 (последний доступ: 14 декабря 2014 г.). Пембролизумаб был одобрен FDA для лечения рецидивирующей или рефрактерной меланомы.

Антитела против PD-1, применяемые в раскрытых способах, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с PD-1 человека и перекрестно конкурируют за связывание с PD-1 человека с любым антителом против PD-1, описанным в данном документе, например, ниволумабом (см., например, патенты США № 8,008,449 и 8,779,105; WO 2013/173223). В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 связывает тот же эпитоп, что и любое из антител против PD-1, описанных в данном документе, например, ниволумаб. Способность антител к перекрестной конкуренции за связывание с антигеном указывает на то, что такие моноклональные антитела связываются с одной и той же эпитопной областью антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно конкурирующих антител с данной конкретной эпитопной областью. Ожидается, что данные перекрестно конкурирующие антитела будут иметь функциональные свойства, очень похожие на свойства эталонного антитела, например, ниволумаба, благодаря их связыванию с одной и той же эпитопной областью PD-1. Перекрестно-конкурирующие антитела можно легко идентифицировать на основе их

способности перекрестно конкурировать с ниволумабом в стандартных анализах связывания PD-1, таких как анализ Biotec, анализы ELISA или проточная цитометрия (см., например, WO 2013/173223).

В определенных вариантах осуществления антитела, которые перекрестно конкурируют за связывание с человеческим PD-1 или связываются с одной и той же эпитопной областью человеческого антитела против PD-1, ниволумаба, являются моноклональными антителами. Для введения людям данные перекрестно конкурирующие антитела представляют собой химерные антитела, сконструированные антитела или гуманизированные или человеческие антитела. Такие химерные, сконструированные, гуманизированные или человеческие моноклональные антитела могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области техники.

Антитела против PD-1, применяемые в способах по раскрытому изобретению, также включают антигенсвязывающие части указанных выше антител. Было убедительно продемонстрировано, что антигенсвязывающая функция антитела может выполняться фрагментами полноразмерного антитела.

Антитела против PD-1, подходящие для применения в раскрытых способах или композициях, представляют собой антитела, которые связываются с PD-1 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют связывание PD-L1 и/или PD-L2 и ингибируют иммуносупрессивный эффект PD-1 сигнального пути. В любой из композиций или способов, описанных в данном документе, «антитело» против PD-1 включает антигенсвязывающую часть или фрагмент, который связывается с рецептором PD-1 и проявляет функциональные свойства, аналогичные свойствам целых антител в отношении ингибирования связывания лиганда, и активизирует иммунную систему. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурирует с ниволумабом за связывание с человеческим PD-1.

Антитело В

Из-за отсутствия перекрестной реактивности ниволумаба с мышинным PD-1, антитело против мышинного PD-1 (далее называемое антителом В) было получено путем введения мышинного аминокислотного остатка в Fc-хвост в 4H2, крысиное антитело против PD1 мыши. Антитело В содержит D265A мышинного IgG1 и включает последовательности вариабельной области легкой и тяжелой цепи, как показано ниже.

Вариабельная область легкой цепи антитела В:

DTVLTQSPALAVSLGQRVTISCKASETVSSSMYSYIHWYQQKPGQPKLLIYRAS
NLESGVPARFSGSGSGTDFTLTIDPVEADDVATYFCQQSWNPWTFGGGTKLELKR
ADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNFPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSW
TDQDSKSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNNEC (SEQ
ID NO: 1)

Вариабельная область тяжелой цепи антитела В:

QVQLKESGPGLVQPSQTLSTCTVSGFSLTSYNVHWVRQPPGKGLEWMGGMRY
NEDTSYNSALKSRLSISRDTSKNQVFLKMNSLQTDDTGTYICTRDAVYGGYGG
WFAYWGQGTLLTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTV
TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNV AHPASSTKVD
KKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITLTTPKVTCTVVVDISKDDPEVQ
FSWVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAF
PAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWN
GQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVQKSNWEAGNT
FTCSVLHEGLHNHHTKSLSHSPGK (SEQ ID NO: 2)

Антитело В использовали в качестве заменителя мышинового антитела против PD1 для изучения эффективности двойного антагониста CCR2/5 в комбинации с антителом против PD1. 4H2 показало EC50, равное 2,9 нМ, при связывании с клетками CHO, экспрессирующими мышиный PD1, что сравнимо со связыванием ниволумаба с клетками CHO, экспрессирующими человеческий PD1 (0,4 нМ). Кроме того, 4H2 показало IC50, равное 3,6 и 4,9 нМ, при блокировании связывания мышинового PD1 с мышиным PD-L1 и мышиным PD-L2, соответственно, что сравнимо со связыванием ниволумаба с человеческим PD-L1 и человеческим PD-L2 (1,04 и 0,97 нМ, соответственно) (таблица 2)

Таблица 2. Эффективность антитела В в отношении мыши по сравнению с эффективностью ниволумаба в отношении человека

Анализ	Эффективность антитела В в отношении мыши	Эффективность ниволумаба в отношении человека
Прямое связывание с PD1- экспрессирующими клетками, для EC50	2,9 нМ	0,4 нМ
Блокирование связывания PD-L1 с PD1- экспрессирующими клетками, для IC50	3,6 нМ	1,04 нМ
Блокирование связывания PD-L2 с PD1- экспрессирующими клетками, для IC50	4,9 нМ	0,97 нМ

Анализы прямого связывания моноклонального антитела (mAb) против PD-1 с PD1, стабильно экспрессируемым на трансфектантах CHO

mAb против человеческого и мышиного PD-1 серийно разводили и инкубировали с трансфектантами клеток CHO, стабильно экспрессирующими человеческий и мышиный PD-1, соответственно, с последующим детектированием с помощью FITC-конъюгированного вторичного антитела к Fc μ мышиного IgG.

Анализы блокирующего связывания PD-L1 с PD-1, стабильно экспрессируемым на трансфектантах CHO

Трансфектанты CHO, стабильно экспрессирующие человеческий и мышиный PD-1, предварительно инкубировали с титрованными mAb против PD-1 человека и мыши, соответственно, с последующим добавлением PD-L1-Fc в концентрации 2 мкг/мл. Связанный с клетками PD-L1-Fc детектировали с помощью FITC-конъюгированного вторичного антитела к Fc μ человеческого IgG.

Анализы блокирующего связывания PD-L2 с PD-1, стабильно экспрессируемым на трансфектантах CHO

Трансфектанты CHO, стабильно экспрессирующие PD-1 человека и мыши, предварительно инкубировали с титрованными mAb против PD-1 человека и мыши, соответственно, с последующим добавлением PD-L2-Fc в концентрации 15 мкг/мл. Связанный с клетками PD-L2-Fc детектировали с помощью FITC-конъюгированного вторичного антитела к Fc γ человеческого IgG.

Антитела против PD-L1, применимые для изобретения

Любое антитело против PD-L1 может быть использовано в способах по настоящему изобретению. Примеры антител против PD-L1, применяемых в способах по настоящему изобретению, включают антитела, раскрытые в патенте США № 9,580,507. Было продемонстрировано, что каждое из человеческих моноклональных антител против PD-L1, раскрытых в патенте США № 9,580,507, проявляет одну или несколько из следующих характерных особенностей: (a) связывается с PD-L1 человека с K_D , равной 1×10^{-7} М или менее, как определено поверхностным плазмонным резонансом с использованием биосенсорной системы Biacore; (b) увеличивает пролиферацию Т-клеток в анализе смешанной реакции лимфоцитов (MLR); (c) увеличивает продукцию интерферона- γ в анализе MLR; (d) увеличивает секрецию IL-2 в анализе MLR; (e) стимулирует ответы антител; и (f) обращает действие регуляторных Т-клеток на эффекторные Т-клетки и/или дендритные клетки. Антитела против PD-L1, применяемые в настоящем изобретении, включают моноклональные антитела, которые специфически связываются с человеческим PD-L1 и проявляют по меньшей мере одну, в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере пять из предыдущих характерных особенностей.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-L1 выбрано из группы, состоящей из BMS-936559 (ранее 12A4 или MDX-1105; см., например, патент США № 7,943,743 и WO 2013/173223), MPDL3280A (также известный как RG7446, атезолизумаб и TECENTRIQ; US 8,217,149; см. также Herbst et al. (2013) J Clin Oncol 31 (suppl): 3000), дурвалумаба (IMFINZI; MEDI-4736; AstraZeneca; см. WO 2011/066389), авелумаба (Pfizer; MSB-0010718C; BAVENCIO; см. WO 2013/079174), STI-1014 (Sorrento; см. WO2013/181634), CX-072 (Cytomx; см. WO2016/149201), KN035 (3D Med/Alphamab; см. Zhang et al., *Cell Discov.* 7: 3 (March 2017), LY3300054 (Eli Lilly Co; см., например, WO

2017/034916) и CK-301 (Checkpoint Therapeutics; см. Gorelik et al., AACR: Abstract 4606 (Apr 2016)).

В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-L1 представляет собой атезолизумаб (TECENTRIQ). Атезолизумаб представляет собой полностью гуманизированное IgG1 моноклональное антитело против PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-L1 представляет собой дурвалумаб (IMFINZI). Дурвалумаб представляет собой человеческое IgG1 каппа моноклональное антитело против PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-L1 представляет собой авелумаб (BAVENCIO). Авелумаб представляет собой человеческое IgG1 лямбда моноклональное антитело против PD-L1.

В других вариантах осуществления моноклональное антитело против PD-L1 выбрано из группы, состоящей из 28-8, 28-1, 28-12, 29-8, 5H1 и любой их комбинации.

Антитела против PD-L1, применяемые в раскрытых способах, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с человеческим PD-L1 и перекрестно конкурируют за связывание с человеческим PD-L1 с любым антителом против PD-L1, описанным в данном документе, например, атезолизумаб и/или авелумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-L1 связывает тот же эпитоп, что и любое из описанных в данном документе антител против PD-L1, например, атезолизумаб и/или авелумаб. Способность антител к перекрестной конкуренции за связывание с антигеном указывает на то, что данные антитела связываются с одной и той же эпитопной областью антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно конкурирующих антител с данной конкретной эпитопной областью. Ожидается, что данные перекрестно конкурирующие антитела будут иметь функциональные свойства, очень похожие на свойства эталонного антитела, например, атезолизумаба и/или авелумаба, в силу их связывания с одной и той же эпитопной областью в PD-L1. Перекрестно-конкурирующие антитела можно легко идентифицировать на основании их способности перекрестно конкурировать с атезолизумабом и/или авелумабом в стандартных анализах связывания PD-L1, таких как анализ Biacore, анализы ELISA или проточная цитометрия (см., например, WO 2013/173223).

В некоторых вариантах осуществления антитела, которые перекрестно конкурируют за связывание с PD-L1 человека или связываются с той же эпитопной областью

человеческого антитела PD-L1, что и атезолизумаб и/или авелумаб, представляют собой моноклональные антитела. Для введения людям данные перекрестно конкурирующие антитела представляют собой химерные антитела, сконструированные антитела или гуманизированные или человеческие антитела. Такие химерные, сконструированные, гуманизированные или человеческие моноклональные антитела могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области.

Антитела анти-PD-L1, применяемые в способах по раскрытому изобретению, также включают антигенсвязывающие части указанных выше антител. Было убедительно продемонстрировано, что антигенсвязывающая функция антитела может выполняться фрагментами полноразмерного антитела.

Антитела против PD-L1, подходящие для применения в раскрытых способах или композициях, представляют собой антитела, которые связываются с PD-L1 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют связывание PD-1 и ингибируют иммуносупрессивный эффект пути передачи сигнала PD-1. В любой из композиций или способов, раскрытых в данном документе, «антитело» против PD-L1 включает антигенсвязывающую часть или фрагмент, который связывается с PD-L1 и проявляет функциональные свойства, аналогичные свойствам целых антител в отношении ингибирования связывания рецептора и активации иммунной системы. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-L1 или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурирует с атезолизумабом и/или авелумабом за связывание с PD-L1 человека.

Антитела против CTLA-4, применимые для изобретения

Любое антитело против CTLA-4, известное в данной области техники, может быть использовано в способах настоящего раскрытия. Антитела против CTLA-4 по настоящему изобретению связываются с человеческим CTLA-4, чтобы нарушить взаимодействие CTLA-4 с человеческим рецептором B7. Поскольку взаимодействие CTLA-4 с B7 трансдуцирует сигнал, ведущий к инактивации Т-клеток, несущих рецептор CTLA-4, нарушение взаимодействия эффективно индуцирует, усиливает или продлевает активацию таких Т-клеток, тем самым индуцируя, усиливая или продлевая иммунный ответ.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CTLA-4 выбрано из ипилимумаба (YERVOY; патент США № 6,984,720), MK-1308 (Merck), AGEN-1884 (Agenus Inc.; WO

2016/196237) и тремелидумаба (ранее тицилидумаб, CP-675206, AstraZeneca, см., например, WO 2000/037504 и Ribas, *Update Cancer Ther.* 2(3): 133-39 (2007)). В конкретных вариантах осуществления антитело против CTLA-4 представляет собой ипилидумаб.

В конкретных вариантах осуществления антитело к CTLA-4 представляет собой тремелидумаб (также известный как CP-675,206). Тремелидумаб представляет собой человеческое IgG2 моноклональное антитело против CTLA-4. Тремелидумаб описан в WO/2012/122444, публикации US № 2012/263677 или WO публикации № 2007/113648 A2.

В конкретных вариантах осуществления антитело к CTLA-4 представляет собой МК-1308, которое представляет собой антитело против CTLA-4, разрабатываемое компанией Merck.

В конкретных вариантах осуществления антитело к CTLA-4 представляет собой AGEN-1884, которое представляет собой рекомбинантное человеческое моноклональное антитело к человеческому CTLA-4, разработанное Agenus Inc.

Антитела против CTLA-4, применяемые в раскрытых способах, также включают выделенные антитела, которые специфически связываются с человеческим CTLA-4 и перекрестно конкурируют за связывание с человеческим CTLA-4 с любым антителом против CTLA-4, раскрытым в данном документе, например, ипилидумаб и/или тремелидумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело против CTLA-4 связывает тот же эпитоп, что и любое из антител против CTLA-4, описанных в данном документе, например, ипилидумаб и/или тремелидумаб. Способность антител к перекрестной конкуренции за связывание с антигеном указывает на то, что данные антитела связываются с одной и той же эпитопной областью антигена и стерически препятствуют связыванию других перекрестно конкурирующих антител с данной конкретной эпитопной областью. Ожидается, что данные перекрестно конкурирующие антитела будут иметь функциональные свойства, очень похожие на свойства эталонного антитела, например, ипилидумаба и/или тремелидумаба, благодаря их связыванию с одной и той же эпитопной областью CTLA-4. Перекрестно конкурирующие антитела можно легко идентифицировать на основании их способности перекрестно конкурировать с ипилидумабом и/или тремелидумабом в стандартных анализах связывания CTLA-4, таких как анализ Biacore, анализы ELISA или проточная цитометрия (см., например, WO 2013/173223).

В некоторых вариантах осуществления антитела, которые перекрестно конкурируют за связывание с человеческим CTLA-4 или связываются с той же эпитопной областью

человеческого антитела против CTLA-4, что и ипилимумаб и/или тремелидумаб, представляют собой моноклональные антитела. Для введения людям данные перекрестно конкурирующие антитела представляют собой химерные антитела, сконструированные антитела или гуманизированные или человеческие антитела. Такие химерные, сконструированные, гуманизированные или человеческие моноклональные антитела могут быть получены и выделены способами, хорошо известными в данной области техники.

Антитела против CTLA-4, применяемые в способах по раскрытому изобретению, также включают антигенсвязывающие части указанных выше антител. Было убедительно продемонстрировано, что антигенсвязывающая функция антитела может выполняться фрагментами полноразмерного антитела.

Антитела против CTLA-4, подходящие для применения в раскрытых способах или композициях, представляют собой антитела, которые связываются с CTLA-4 с высокой специфичностью и аффинностью, блокируют активность CTLA-4 и нарушают взаимодействие CTLA-4 с рецептором В7 человека. В любой из композиций или способов, раскрытых в настоящем документе, «антитело» против CTLA-4 включает антигенсвязывающую часть или фрагмент, который связывается с CTLA-4 и проявляет функциональные свойства, аналогичные свойствам целых антител в отношении ингибирования взаимодействия CTLA-4 с человеческим рецептором В7 и активирования иммунной системы. В некоторых вариантах осуществления антитело против CTLA-4 или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурирует с ипилимумабом и/или тремелидумабом за связывание с человеческим CTLA-4.

Используемый в данном документе термин «комбинация» включает терапии, которые можно вводить по отдельности, например, составленные отдельно для отдельного введения (например, как может быть предоставлено в наборе), и терапии, которые можно вводить вместе в одном препарате (т.е. «совместный состав»). В некоторых аспектах моноклональное антитело и соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль и/или химиотерапия вводятся или применяются последовательно, например, когда одно средство вводят до одного или нескольких других средств. В других вариантах осуществления моноклональное антитело и соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль и/или химиотерапия вводятся одновременно, например, когда два или более средств вводятся в одно или приблизительно в одно и то же время; два или более средства могут присутствовать в двух или более отдельных составах или могут

быть объединены в один состав (т.е. совместный состав). Независимо от того, вводятся ли два или более средства последовательно или одновременно, для целей настоящего раскрытия считается, что они вводятся в комбинации.

В иллюстративных аспектах раскрытия антитело представляет собой ниволумаб. В некоторых аспектах

ниволумаб можно вводить путем внутривенной инфузии в дозе от около 400 мг до 500 мг каждые 4 недели. Например, ниволумаб можно вводить субъекту внутривенной инфузией в дозе около 400 мг, 410 мг, 420 мг, 430 мг, 440 мг, 450 мг, 460 мг, 470 мг, 480 мг, 490 мг или около 500 мг каждые 4 недели. В предпочтительных аспектах ниволумаб можно вводить путем внутривенной инфузии в дозе около 480 мг каждые 4 недели.

В некоторых аспектах ниволумаб можно вводить субъекту путем внутривенной инфузии в дозе от около 80 мг до 360 мг каждые 3 недели. Например, ниволумаб можно вводить субъекту внутривенной инфузией в дозе около 80 мг, 90 мг, 100 мг, 110 мг, 120 мг, 130 мг, 140 мг, 150 мг, 160 мг, 170 мг, 180 мг, 190 мг, 200 мг, 210 мг, 220 мг, 230 мг, 240 мг, 250 мг, 260 мг, 270 мг, 280 мг, 290 мг, 300 мг, 310 мг, 320 мг, 330 мг, 340 мг, 350 мг или около 360 мг каждые 3 недели. В предпочтительных аспектах ниволумаб можно вводить путем внутривенной инфузии в дозе около 80 мг каждые 3 недели. В других предпочтительных аспектах ниволумаб вводят путем внутривенной инфузии в дозе около 360 мг каждые 3 недели.

В некоторых аспектах ниволумаб можно вводить внутривенной инфузией в дозе от около 200 мг до 300 мг каждые 2 недели. Например, ниволумаб можно вводить субъекту путем внутривенной инфузии в дозе около 200 мг, 210 мг, 220 мг, 230 мг, 240 мг, 250 мг, 260 мг, 270 мг, 280 мг, 290 мг или около 300 мг каждые 2 недели. В предпочтительных аспектах ниволумаб можно вводить путем внутривенной инфузии в дозе около 240 мг каждые 2 недели.

В некоторых аспектах ниволумаб дополнительно вводится с ипилимумабом, при этом ипилимумаб можно вводить путем внутривенной инфузии в дозе от около 1 мг/кг до 10 мг/кг каждые 3 недели. Например, ипилимумаб можно вводить субъекту путем внутривенной инфузии в дозе около 1 мг/кг, 2 мг/кг, 3 мг/кг, 4 мг/кг, 5 мг/кг, 6 мг/кг, 7 мг/кг, 8 мг/кг, 9 мг/кг или 10 мг/кг каждые 3 недели. В предпочтительных аспектах ипилимумаб можно вводить путем внутривенной инфузии в дозе около 3 мг/кг каждые 3 недели.

Используемый в данном документе термин «вводится субъекту» и подобные термины обозначают процедуру, с помощью которой соединение вводят пациенту таким образом, чтобы клетки-мишени, ткани или сегменты тела субъекта контактировали с соединением. Рассматриваемые в данном документе способы введения включают, но не ограничиваются ими, пероральное, местное, ингаляционное или парентеральное введение. Подходящие парентеральные способы введения включают, но не ограничиваются ими, внутривенное, внутримышечное, подкожное и внутрикожное парентеральное введение.

В некоторых аспектах комбинацию моноклонального антитела и соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, как описано в данном документе, можно вводить субъекту с раком, при этом субъекту, возможно, ранее вводили по меньшей мере одну терапию для лечения рака. Такие субъекты могут упоминаться как «имеющие опыт лечения» или «не лечившиеся ранее». В некоторых аспектах предшествующая терапия продолжается. В других аспектах предыдущая терапия была прекращена. У данных субъектов предыдущая терапия могла быть прекращена приблизительно на 12 часов или на 24 часа. В других аспектах предыдущая терапия могла быть прекращена приблизительно на 2, 3, 4, 5 или 6 дней. В других аспектах предыдущая терапия могла быть прекращена приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 недель или дольше. В некоторых аспектах предшествующая терапия могла быть прекращена приблизительно на 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или около 11 месяцев. В других аспектах предыдущая терапия могла быть прекращена приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или около 10 лет.

Примеры предшествующих способов лечения включают, но не ограничиваются ими: хирургическое вмешательство, лучевую терапию, химиотерапию, иммунотерапию, таргетную терапию, гормональную терапию, трансплантацию стволовых клеток или индивидуальный подбор лечения.

Используемый в данном документе термин «химиотерапия» относится к введению одного или нескольких химиотерапевтических препаратов и/или других средств больному раком различными способами, включая внутривенный, пероральный, внутримышечный, внутривентрикулярный, внутрипузырный, подкожный, трансдермальный, буккальный, ингаляционный или в виде суппозитория.

Используемый в данном документе термин «хирургическое вмешательство» относится к хирургическим способам, применяемым для удаления раковой ткани, включая, помимо прочего, биопсию опухоли или удаление части или всей толстой кишки

(колостомия), мочевого пузыря (цистэктомия), селезенки (спленэктомия), желчного пузыря (холецистэктомия), желудка (гастрэктомия), печени (частичная гепатэктомия), поджелудочной железы (панкреатэктомия), яичников и фаллопиевых труб (двусторонняя сальпингоофороэктомия), сальника (оментэктомия) и/или матки (гистерэктомия).

В некоторых аспектах комбинация моноклонального антитела и соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, как описано в данном документе, может быть введена субъекту с раком, который ранее не лечился. Используемый в данном документе термин «не лечившийся» означает, что субъекту ранее не вводили предшествующую терапию для лечения рака.

В некоторых аспектах моноклональное антитело и соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль могут вводиться в дополнительной комбинации с дополнительными терапевтическими средствами любым способом, подходящим в данных обстоятельствах. Примеры терапевтических средств, которые можно использовать в комбинациях для лечения рака, раскрытых в данном документе, включают облучение, иммуномодулирующее средство или химиотерапевтическое средство или диагностическое средство. Подходящие иммуномодулирующие средства, которые могут быть использованы в настоящем изобретении, включают в себя другие моноклональные антитела, описанные в данном документе, CD40L, B7 и B7RP1; активирующие моноклональные антитела (mAb) к стимулирующим рецепторам, такие как анти-CD40, анти-CD38, анти-ICOS и 4-1BB лиганд; нагрузка антигеном дендритных клеток (*in vitro* или *in vivo*); противораковые вакцины, такие как вакцины против рака дендритных клеток; цитокины/хемокины, такие как IL1, IL2, IL12, IL18, ELC/CCL19, SLC/CCL21, MCP-1, IL-4, IL-18, TNF, IL-15, MDC, IFN α /b, M-CSF, IL-3, GM-CSF, IL-13 и анти-IL-10; бактериальные липополисахариды (ЛПС); и иммуностимулирующие олигонуклеотиды.

Примеры химиотерапевтических средств включают, но не ограничиваются ими, алкилирующие средства, такие как тиотепа и циклофосфамид; алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбохон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая альтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентиофосфорамид и триметилломеламин; азотные иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, холофосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, гидрохлорид оксида мехлорэтамина, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид,

урациловый иприт; нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин, ранимустин; антибиотики, такие как аклациномизин, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, калихеамицин, карабицин, каминомицин, карзинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин, эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфиномицин, пурамицин, келамицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностатин, зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин и флоксуридин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпитиостанол, мепитиостан, тестолактон; против надпочечников, такие как аминоклутетимид, митотан, трилостан; восполнитель фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота; ацеглатон; гликозид альдофосфамида; аминоклевулиновая кислота; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; элформитин; эллиптиния ацетат; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевина; лентинан; лонидамин; митогуазон; митоксантрон; мопидамол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; подофиллиновая кислота; 2-этилгидразид; прокарбазин; разоксан; сизофиран; спирогерманий; тенуазоновая кислота; триазиквон; 2,2',2''-трихлортриэтиламин; уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид (Ara-C); циклофосфамид; тиотепа; таксоиды, например, паклитаксел; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; платина и координационные комплексы платины, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин; этопозид (VP-16); ифосфамид; митомицин C; митоксантрон; винкристин; винорелбин; навельбин; новантрон; тенипозид; дауномицин; аминоптерин; кселода; ибандронат; СРТ11; ингибиторы топоизомеразы; дифторметилорнитин (ДФМО); ретиноевая кислота; эсперамицины; капецитабин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных.

Химиотерапевтические средства также включают антигормональные средства, которые регулируют или ингибируют гормональное действие на опухоли, такие как

антиэстрогены, включая, например, тамоксифен, ралоксифен, 4(5)-имидазолы, ингибирующие ароматазу, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, онапристон и торемифен; и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гозерелин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает введение гормона или родственного гормонального средства.

Химиотерапевтические средства также включают ингибиторы сигнальной трансдукции (STI). Термин «ингибитор сигнальной трансдукции» относится к средству, которое селективно ингибирует одну или несколько стадий сигнального пути. Ингибиторы сигнальной трансдукции (STI) по настоящему изобретению включают: (i) ингибиторы киназ bcr/abl (например, GLEEVEC™); (ii) ингибиторы рецептора эпидермального фактора роста (EGF), включая ингибиторы киназ и антитела; (iii) ингибиторы рецептора her-2/neu (например, HERCEPTIN™); (iv) ингибиторы киназ семейства Akt или пути Akt (например, рапамицин); (v) ингибиторы киназы клеточного цикла (например, флавопиридол); и (vi) ингибиторы фосфатидилинозитолкиназы.

Химиотерапевтические средства также включают оксалиплатин, производные витамина В, например, лейковорин (FOL, фолиновую кислоту) и ингибитор топоизомеразы, например, иринотекан.

В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтические средства выбраны из паклитаксела, гемцитабина, 5-фторурацила (5-FU), лейковорина и иринотекана.

FOLFIRI представляет собой схему химиотерапии, включающую FOL - фолиновую кислоту (лейковорин) и F-фторурацил (5-FU) и IRI - иринотекан.

FOLFOX представляет собой схему химиотерапии, включающую FOL - фолиновую кислоту (лейковорин) и F - фторурацил (5-FU) и OX - оксалиплатин.

Gem/ABRAXANE (наб-паклитаксел) представляет собой схему химиотерапии, включающую гемцитабин и наб-паклитаксел.

Дополнительные способы лечения, которые можно использовать в комбинации с моноклональным антителом и соединением формулы (I) или его фармацевтически приемлемой солью, включают цитокин или антагонист цитокинов, такой как IL-12, IFN или рецептор противэпидермального фактора роста, лучевую терапию, моноклональное

антитело против другого опухолевого антигена, комплекс моноклонального антитела и токсина, адъювант Т-клеток, трансплантат костного мозга или антигенпредставляющие клетки (например, терапия дендритными клетками). Вакцины (например, в виде растворимого белка или в виде нуклеиновой кислоты, кодирующей белок) также предусмотрены в настоящем документе.

«Рак» относится к широкой группе различных заболеваний, характеризующихся неконтролируемым ростом аномальных клеток в организме. «Рак» или «раковая ткань» может включать опухоль. Нерегулируемое деление и рост клеток приводит к образованию злокачественных опухолей, которые проникают в соседние ткани, а также могут метастазировать в отдаленные части тела через лимфатическую систему или кровоток. После метастазирования можно сказать, что дистальные опухоли «произошли из» опухоли до метастазирования. Например, «опухоль, происходящая из» рака поджелудочной железы, относится к опухоли, которая является результатом метастазирующего рака поджелудочной железы. Поскольку дистальная опухоль происходит из опухоли перед метастазами, опухоль «происходящая из» может также включать опухоль перед метастазами, например, опухоль, происходящая из рака поджелудочной железы, может включать рак поджелудочной железы.

В некоторых аспектах рак представляет собой злокачественную солидную опухоль. В дополнительных аспектах рак является метастатическим и/или неоперабельным. Примеры раковых заболеваний, которые можно лечить с использованием описанных в данном документе соединений и композиций, включают, но не ограничиваются ими: рак поджелудочной железы, колоректальный рак, немелкоклеточный рак легкого, почечно-клеточную карциному; плоскоклеточный рак головы и шеи, рак мочевого пузыря, рак простаты, шейки матки, желудка, эндометрия, мозга, печени, яичников, яичка, головы, шеи, кожи (включая меланому и базальный рак), мезотелиальной оболочки, пищевода, груди, мышцы, соединительной ткани, легкого (включая мелкоклеточную карциному легких и немелкоклеточную карциному), надпочечника, щитовидной железы, почки или кости; глиобластому, мезотелиому, рак желудка, саркому, хориокарциному, кожную базоцеллюлярную карциному и семиному яичка. В предпочтительных аспектах рак представляет собой рак шейки матки, немелкоклеточный рак легкого, почечно-клеточную карциному; плоскоклеточный рак головы и шеи, рак мочевого пузыря, рак поджелудочной железы, меланому, лимфому или рак желудка. В более предпочтительных аспектах рак

представляет собой меланому, немелкоклеточный рак легкого, плоскоклеточный рак головы и шеи, рак мочевого пузыря, почечно-клеточную карциному или карциному желудка.

В некоторых аспектах раскрытия субъект демонстрирует улучшение его/ее показателя общего состояния (статуса) по шкале Восточной кооперативной онкологической группы (Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) Performance Status) после лечения в соответствии с любым из раскрытых способов. В некоторых аспектах субъект демонстрирует после лечения показатель общего состояния по шкале ECOG, меньше или равный 1, как описано в данном документе. В других аспектах субъект демонстрирует после лечения показатель общего состояния по шкале ECOG, меньше или равный 2. В других аспектах субъект демонстрирует после лечения показатель общего состояния ECOG, меньше или равный 3. В других аспектах субъект демонстрирует после лечения показатель общего состояния ECOG, меньше или равный 4. Показатель общего состояния (статус) ECOG, разработанный Восточной кооперативной онкологической группой, предоставляет следующие описания статуса для каждой степени: Уровень 0 полностью активен, способен без ограничений выполнять все действия, как и до заболевания; Уровень 1 ограничен в физически напряженной деятельности, но может передвигаться и выполнять легкую или сидячую работу, например, легкую домашнюю работу, канцелярскую работу; Уровень 3 лечится амбулаторно и способен к самообслуживанию, но неспособен выполнять какую-либо работу; и проводит более 50% времени бодрствования в вертикальном положении.

В некоторых аспектах пациент является взрослым человеком. Например, группы взрослых пациентов могут включать пациентов в возрасте 18 лет и старше. В других аспектах пациент является гериатрическим пациентом. Например, гериатрические группы могут включать пациентов в возрасте 64 лет и старше. В других аспектах пациент является педиатрическим пациентом. Например, педиатрические пациенты могут быть недоношенными новорожденными (период при рождении, когда новорожденный рождается до полного гестационного периода), доношенными новорожденными (от рождения до 27 дней), младенцами (от 28 дней до 12 месяцев), малышами (от 13 месяцев до 2 лет), в раннем детстве (от 2 до 5 лет), в среднем детстве (от 6 до 11 лет), в раннем подростковом возрасте (от 12 до 18 лет) или в позднем подростковом возрасте (от 19 до 21 года).

В некоторых аспектах способы лечения, раскрытые в настоящем документе, могут привести к нежелательным явлениям, связанным с лечением (treatment related adverse event (TRAE)), как установлено Общими терминологическими критериями нежелательных

явлений (Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE)), опубликованными Министерством здравоохранения и социальных служб США. Нежелательное явление (НЯ) представляет собой любой неблагоприятный и непреднамеренный признак (включая отклонение лабораторного показателя от нормы), симптом или заболевание, временно связанные с применением медицинского лечения или процедуры, вне зависимости от наличия или отсутствия такой связи с лечением или процедурой. НЯ является термином, который представляет собой уникальное представление определенного события, используемое для медицинской документации и научных анализов. Общие рекомендации, установленные CTCAE, следующие: Степень относится к степени тяжести НЯ, где степень 1 определяется как легкая; симптомы отсутствуют либо имеют слабовыраженный характер; только клинические или диагностические наблюдения; вмешательство не показано. Степень 2 определяется как умеренная; показано минимальное, местное или неинвазивное вмешательство; ограничение соответствующей возрасту активности в повседневной жизни (activities of daily living (ADL)). Степень 3 представляет собой тяжелое или клинически значимое состояние, но не представляющее непосредственной угрозы для жизни; показана госпитализация или продление госпитализации; инвалидность; ограничение способности к самообслуживанию по шкале ADL. Степень 4 представляет собой жизнеугрожающие последствия; показано экстренное вмешательство. Степень 5 представляет собой смерть, связанную с НЯ. Примеры TRAE, превышающие или равные 2, включают увеит, снижение аппетита, гипертермию, анемию, аутоиммунный гепатит, утомляемость, головную боль, тошноту и/или рвоту. Примеры TRAE степени 3/4, также называемые «серьезными TRAE», включают повышение уровня липазы, гипофосфатемию, сыпь, повышение уровня аспартатаминотрансферазы, повышение уровня аланинаминотрансферазы, гепатит, гипертензию, панкреатит и/или аутоиммунный гепатит.

В некоторых аспектах описанные в данном документе способы лечения могут не приводить к нежелательному явлению 4-й или 5-й степени. В других аспектах описанные в данном документе способы лечения могут привести к нежелательному явлению не более чем 1-й степени. В дополнительных аспектах описанные в данном документе способы лечения могут привести к нежелательному явлению не более чем 2-й степени. В других аспектах описанные в данном документе способы лечения могут привести к нежелательному явлению не более чем 3-й степени.

В аспектах способов, раскрытых в данном документе, субъект может проявлять улучшенную противоопухолевую активность, измеряемую частотой объективного ответа (ЧОО), продолжительностью ответа и показателем выживаемости без прогрессирования заболевания (ВБП).

Частота объективного ответа (ЧОО) может быть количественно определена исследователем и/или врачом для оценки ответа с использованием критериев оценки ответа при солидных опухолях (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors (RECIST)) v1.1, разработанных в сотрудничестве между Европейской организацией по исследованию и лечению рака (European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC)), Национальным институтом рака National Cancer Institute (NCI), США и Группой клинических испытаний Национального института рака Канады. По желанию, ЧОО может быть проверена центральной лабораторией визуализации.

«Выживаемость без прогрессирования (ВБП)», используемая в контексте описанных в данном документе видов рака, относится к продолжительности времени во время и после лечения рака до объективного развития опухоли или смерти. Лечение можно оценивать по объективным или субъективным параметрам; включая результаты медицинского осмотра, неврологического осмотра или психиатрической экспертизы. В предпочтительных аспектах ВБП может быть оценена с помощью слепого центрального обзора изображений и может дополнительно необязательно подтверждаться с помощью ЧОО или слепого независимого центрального обзора (blinded independent central review (BICR)).

«Общая выживаемость (ОВ)» может быть оценена по скорости ОВ в определенных временных точках (например, 1 год и 2 года) по способу Каплана-Мейера и соответствующие 95% ДИ будут получены на основе формулы Greenwood по изучению лечения каждого типа опухоли. Показатель ОВ определяется как доля участников, которые живы на данный момент. ОВ для участника определяется как время от даты первой дозы до даты смерти по любой причине.

«Неблагоприятное событие» (НЯ), используемое в данном документе, представляет собой любой неблагоприятный и, как правило, непреднамеренный или нежелательный признак (включая отклонение лабораторного показателя от нормы), симптом или заболевание, связанное с применением медицинского лечения. Медицинское лечение может иметь одно или несколько связанных НЯ, и каждое НЯ может иметь одинаковый или разный уровень тяжести. Ссылка на способы, способные «изменить нежелательные явления»,

означает режим лечения, который снижает частоту и/или тяжесть одного или нескольких НЯ, связанных с использованием другого режима лечения.

«Субтерапевтическая доза» означает дозу терапевтического соединения (например, антитела), которая ниже, чем обычная или типичная доза терапевтического соединения при введении по отдельности для лечения гиперпролиферативных заболеваний (например, рака).

В некоторых вариантах осуществления способы, раскрытые в данном документе, используются вместо стандартного лечения. В некоторых вариантах осуществления стандартное лечение используется в сочетании с любым раскрытым в данном документе способом. Стандартные способы лечения различных типов рака хорошо известны специалистам в данной области техники. Например, Национальная комплексная онкологическая сеть (National Comprehensive Cancer Network (NCCN)), объединяющая 21 крупный онкологический центр в США, публикует Руководство NCCN по клинической практике в онкологии (NCCN GUIDELINES®), которое предоставляет подробную актуальную информацию о стандартных способах лечения для самых разных видов рака (см. NCCN GUIDELINES®, 2014, доступно по адресу: www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp, последний доступ 14 мая 2014 г.).

Лечение продолжают до тех пор, пока наблюдается клиническая польза или пока не возникнет неприемлемая токсичность или прогрессирование заболевания. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 можно вводить в дозировке, которая, как было показано, дает наивысшую эффективность в качестве монотерапии в клинических испытаниях, например, около 3 мг/кг ниволумаба, вводимого один раз приблизительно каждые три недели (Toralian *et al.*, 2012 *N Engl J Med* 366: 2443-54; Toralian *et al.*, 2012 *Curr Opin Immunol* 24: 207-12), в фиксированной дозе 240 мг или в значительно более низкой дозе, то есть в субтерапевтической дозе.

Дозировка и частота варьируются в зависимости от периода полужизни антитела у субъекта. В общем, человеческие антитела показывают самый длительный период полужизни, за ними следуют гуманизированные антитела, химерные антитела и нечеловеческие антитела. Дозировка и частота приема могут варьироваться в зависимости от того, является ли лечение профилактическим или терапевтическим. В профилактических целях относительно низкие дозы обычно вводятся через относительно нечастые интервалы в течение длительного периода времени. Некоторые пациенты продолжают получать

лечение всю оставшуюся жизнь. В терапевтических целях иногда требуется относительно высокая доза с относительно короткими интервалами до тех пор, пока прогрессирование заболевания не уменьшится или не прекратится, и пока у пациента не появится частичное или полное уменьшение симптомов заболевания. После этого пациенту может быть назначен профилактический режим.

Фактические уровни дозировки активных ингредиентов в фармацевтических композициях по настоящему изобретению могут варьироваться, чтобы получить количество активного ингредиента, эффективное для достижения желаемого терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и способа введения, не будучи чрезмерно токсичными для пациента. Выбранный уровень дозировки будет зависеть от множества фармакокинетических факторов, включая активность конкретных применяемых композиций по настоящему изобретению, путь введения, время введения, скорость выведения конкретного применяемого соединения, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или материалы, используемые в сочетании с конкретными применяемыми композициями, возраст, пол, массу, состояние, общее состояние здоровья и предшествующий медицинский анамнез пациента, которого лечат, и подобные факторы, хорошо известные в области медицины. Композицию по настоящему изобретению можно вводить одним или несколькими способами введения с использованием одного или нескольких способов, хорошо известных в данной области. Как будет понятно специалисту в данной области, путь и/или способ введения будут варьироваться в зависимости от желаемых результатов.

Наборы

В объем настоящего изобретения также включены наборы, включающие двойной антагонист CCR2/5, моноклональное антитело и/или химиотерапевтические средства для терапевтических целей. Наборы обычно включают этикетку с указанием предполагаемого использования содержимого набора и инструкции по применению. Термин «этикетка» включает любой письменный или записанный материал, поставляемый с комплектом или вместе с ним или иным образом сопровождающий комплект.

Следующие ниже примеры являются просто иллюстративными и не предназначены для ограничения раскрытия материалов, условий или параметров процесса, изложенных в нем.

ПРИМЕРЫ

ПРИМЕР 1. Комбинация соединения А и антитела В против прогрессирования опухоли (МС38) толстой кишки мыши

Фармакологические исследования комбинации были проведены для оценки CCR2/5-двойного антагониста, соединения А, в комбинации с антителом против PD-1, антителом В, у мышей с опухолью.

Самок мышей C57BL/6 из Charles River Laboratories (Raleigh, NC) получали в возрасте от 6 до 8 недель и акклиматизировали в течение от 3 до 7 дней перед имплантацией. Клетки МС38 опухоли толстой кишки мыши имплантировали подкожно в концентрации 1×10^7 клеток/мл, 0,1 мл на инъекцию, с использованием туберкулинового шприца объемом 1 мл с иглой 25 г.

На 6-й день после имплантации мышей рандомизировали и распределяли по группам по 10 мышей в каждой. Лечение было начато на 6 день с использованием контрольного носителя и изотипического контроля; только антитело В (против мышинового PD1), 10 мг/кг; только соединение А в дозе 25, 50 и 100 мг/кг (для исследования №1), в концентрациях 6,25, 12,5, 25 и 50 мг/кг (для исследования №2); соединение А в дозе 25, 50 и 100 мг/кг в комбинации с антителом В в дозе 10 мг/кг (для исследования № 1), в дозе 6,25, 12,5, 25 и 50 мг/кг в комбинации с антителом В в дозе 10 мг/кг (для исследования № 2). Соединение А вводили по непрерывному графику два раза в день с помощью перорального приема в течение 28 дней. Антитело В вводили внутривентриально каждые 4 дня, в общей сложности 3 дозы. Кровь собирали (10 мкл крови, забранной из хвоста) на карточки DBS (dried blood spot, сухое пятно крови) в середине эксперимента по оценке РК соединения А в моменты времени 1, 4, 7 и 24 часа.

Опухоли и массы тела в группе измеряли и взвешивали два раза в неделю до тех пор, пока опухоли не достигали объема около 1500 мм³. Животных подвергали эвтаназии, если опухоль достигала объема более около 1500 мм³ или выглядела изъязвленной. Для

определения эффективности рассчитывали графики средней выживаемости, медианной выживаемости и/или общей выживаемости, а также количество мышей без опухолей.

Результаты данных исследований показывают, что комбинация соединения А, дозированного перорально два раза в сутки в дозе 25, 50 и 100 мг/кг в течение 28 дней, соответственно, и антитела В, дозированного два раза в неделю в дозе 10 мг/кг, в общей сложности 3 дозы, обеспечивает большую противоопухолевую эффективность по сравнению с любым средством по отдельности, как измерено по уменьшению объема опухоли (см. ФИГ. 1).

Анализ минимальной концентрации соединения А в крови показал 0,6-, 2,5- и 26,5-кратное превышение IC₉₀ при дозах 25, 50 и 100 мг/кг, соответственно, что указывает на то, что соединение А в диапазоне его минимальных концентраций в крови, соответствующих от 0,6- до 26,5-кратному превышению IC₉₀, синергически с антителом В препятствует прогрессированию опухоли (таблица 1). Как соединение А, так и антитело В, по отдельности или в комбинации, хорошо переносились. Ни одна из мышей, получавших комбинацию, не показала каких-либо клинических признаков токсичности и это не оказало влияния на массу тела.

Таблица 1: Дозы, противоопухолевая эффективность и соотношения доза/минимальная концентрация в крови для соединения А отдельно и в комбинации с антителом В

	Соединение А			Антитело В	Соединение А + антитело В		
Доза (мг/кг)	25	50	100	10	25	50	100
Мыши без опухолей	0/10	0/10	0/10	1/10	8/10	4/10	2/10
Кратность превышения IC ₉₀ минимальной концентрацией в крови	0,4	4,2	25,4	н/о	0,6	2,5	26,5

Было проведено другое исследование с более низкими дозами соединения А в комбинации с антителом В, и результаты показали, что комбинация соединения А, дозированного перорально два раза в сутки в дозе 6,25, 12,5, 25 и 50 мг/кг в течение 28 дней, соответственно, и антитела В, дозированного дважды в неделю в дозе 10 мг/кг, в общей сложности 3 дозы, обеспечивают большую противоопухолевую эффективность по сравнению с любым средством по отдельности, что измеряется по уменьшению объема опухоли (см. ФИГ. 2).

Анализ минимальной концентрации соединения А в крови показал 0,6-, 2,5- и 26,5-кратное превышение IC90 при дозах 6,25, 12,5, 25 и 50 мг/кг, соответственно, что указывает на то, что соединение А в диапазоне его минимальных концентраций в крови, соответствующих от 0,05 до 1,56-кратному превышению IC90, синергически с антителом В препятствует прогрессированию опухоли (таблица 2).

Таблица 2: Дозы, противоопухолевая эффективность и соотношения доза/минимальная концентрация в крови для соединения А отдельно и в комбинации с антителом В

	Соединение А		Антитело В	Соединение А + антитело В			
Доза мг/кг	6,25	50	10	6,25	12,5	25	50
Мыши без опухолей	0/10	0/10	0/10	8/10	8/8	8/8	4/9
Кратность превышения IC90 минимальной концентрацией в крови	0,1	5,4	н/о	0,05	0,15	0,34	1,56
Кратность превышения IC90 минимальной концентрацией в крови	0,9	48,6	н/о	0,5	1.3	3.1	14.0

н/о: не определено

ПРИМЕР 2. Комбинация соединения А и антитела В против прогрессирования опухоли (СТ26) толстой кишки мыши

Фармакологические исследования комбинации были проведены для оценки соединения А в комбинации с антителом В на модели опухоли толстой кишки СТ26.

Самок мышей BALB/С из ENVIGO (Frederick, MD) получали в возрасте от 6 до 8 недель и акклиматизировали в течение от 3 до 7 дней перед имплантацией. Клетки СТ26 опухоли толстой кишки мыши имплантировали подкожно в концентрации 1×10^7 клеток/мл, 0,1 мл на инъекцию, с использованием туберкулинового шприца объемом 1 мл с иглой 25 г.

На 10-й день после имплантации мышей рандомизировали и распределяли по группам по 10 мышей в группе. Лечение начинали на 10-й день с использованием контрольного носителя и изотипического контроля; только антитело В (антимышиное PD1), 10 мг/кг; только соединение А в дозе 6, 25, 12,5, 25 и 50 мг/кг. Соединение А в дозе 6,25, 12,5, 25 и 50 мг/кг в комбинации с антителом В в дозе 10 мг/кг. Соединение А вводили по непрерывному графику дважды в день перорально в течение 28 дней. Антитело В вводили внутривентрально каждые 4 дня, в общей сложности 3 дозы.

Опухоли и массу тела в группе взвешивали и измеряли дважды в неделю до тех пор, пока опухоли не достигали объема около 1500 мм³. Животных умерщвляли, если опухоль достигала объема более около 1500 мм³ или выглядела изъязвленной. Для определения эффективности рассчитывали графики средней выживаемости, медианной выживаемости и/или общей выживаемости, а также количество мышей без опухолей.

Результаты данных исследований показывают, что комбинация соединения А, дозированного перорально два раза в сутки в дозе 6,25, 12,5, 25 и 50 мг/кг в течение 28 дней, соответственно, и антитела В, дозированного два раза в неделю в дозе 10 мг/кг, в общей сложности 3 дозы, обеспечивают большую противоопухолевую эффективность по сравнению с любым средством по отдельности, как измерено по уменьшению объема опухоли (см. ФИГ. 3 и ТАБЛИЦУ 3 Ошибка! Ссылочный источник не найден), причем комбинация соединения А в дозе 12,5 мг/кг с антителом В показывает наиболее сильную противоопухолевую активность из четырех групп комбинаций.

На основании РК-данных с соединением А у мышей линии BALB/C, его минимальные концентрации в крови после введения дозы, согласно прогнозам, показали приблизительно 0,1-, 0,2-, 0,5- и 1- кратное превышение IC90 при дозах 6,25, 12,5, 25 и 50 мг/кг, соответственно, что указывает на то, что соединение А в диапазоне его минимальных концентраций в крови, соответствующих от 0,1 до 1-кратному превышению IC90, синергически с антителом В препятствует прогрессированию опухоли (таблица 3). И соединение А, и антитело В, по отдельности или в комбинации, хорошо переносились. Ни одна из мышей, получавших комбинацию, не показала каких-либо клинических признаков токсичности и не оказало влияния на массу тела.

Таблица 3: Дозы, противоопухолевая эффективность, соотношения доза/минимальная концентрация в крови для соединения А отдельно и в комбинации с антителом В

	Соединение А			Антитело В	Соединение А + Антитело В			
Доза мг/кг	12,5	25	50	10	6,25	12,5	25	50
Мыши без опухолей	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	3/10	0/10	0/10
Кратность превышения IC90 минимальной концентрацией в крови	~ 0,2	~ 0,5	~ 1	н/о	~ 0,1	~ 0,2	~ 0,5	~ 1
Кратность превышения IC90 минимальной	~ 2	~ 4	~ 8	н/о	~ 1	~ 2	~ 4	~ 8

концентрацией в крови (прогноз)								
---------------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--

ПРИМЕР 3. Соединение С, вводимое в комбинации либо с ниволумабом, либо с химиотерапией, у пациентов с поздними стадиями рака

Не ограничивающий пример фазы 1b/2 открытого клинического исследования, состоящего из 2 частей, как описано ниже.

Цель:

Целью данного исследования является, среди прочего, оценка профиля безопасности, переносимости, PK, PD и предварительной эффективности соединения С, вводимого в комбинации с ниволумабом или химиотерапией пациентам с метастатическим колоректальным раком и раком поджелудочной железы.

Вмешательство:

Пациентам вводят соединение С в определенной дозе с заданными интервалами. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения пациентам также будут вводить второе терапевтическое средство или режим химиотерапии в дополнение к соединению С. В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой ниволумаб, который вводят через определенные интервалы. В некоторых вариантах осуществления режим химиотерапии представляет собой FOLFIRI или Gem/ABRAXANE (наб-паклитаксел), который вводят через определенные промежутки времени.

Дизайн исследования

Исследование состоит из 2 частей. Часть 1 будет оценивать безопасность, переносимость, PK и PD двух различных доз соединения С (то есть, 300 мг два раза в сутки или 600 мг один раз в сутки) в сочетании либо с FOLFIRI (Группа А), Gem/ABRAXANE (наб-паклитаксел) [Группа В] или ниволумаб (Группа С) у пациентов с поздними стадиями колоректального рака и рака поджелудочной железы. Часть 2 представляет собой

исследование увеличения дозы для оценки предварительной эффективности соединения С в комбинации с химиотерапией или ниволумабом у пациентов с поздними стадиями колоректального рака и рака поджелудочной железы. Группа D (Соединение С монотерапия) откроется, если участники группы С показывают частоту объективного ответа (ЧОО) около 15% или наблюдаются длительные реакции с комбинацией ниволумаб и соединением С.

Цели и первичные и вторичные конечные точки анализа данного исследования показаны в таблице 3 (часть 1) и таблице 4 (часть 2).

Таблица 3: Цели и конечные точки (Часть 1)

Цели	Конечные точки
Первичные	
1) Для оценки безопасности и переносимости соединения С в комбинации либо с FOLFIRI (группа А), Gem + наб-паклитаксел (группа В), либо ниволумабом (Группа С) у пациентов с поздними стадиями CRC и рака поджелудочной железы	1a) Частота НЯ, СНЯ, НЯ, удовлетворяющих установленным протоколом критериям DLT, НЯ, приводящие к прекращению лечения, и смерти; Частота лабораторных отклонений 1b) Сводные измерения основных показателей жизнедеятельности или ЭКГ
Вторичные	
1) Для оценки предварительной эффективности соединения С в комбинации либо с FOLFIRI (группа А), Gem + наб-паклитаксел (группа В), либо ниволумабом (Группа С) у пациентов с поздними стадиями CRC и рака поджелудочной железы	1) Общая частота ответа, медианная продолжительность ответа и показатель выживаемости без прогрессирования через 24 недели
2) Для характеристики рК соединения С и его метаболита, при введении только и в комбинации либо с Gem + наб-паклитаксел, FOLFIRI, либо с ниволумабом	2a) Параметры РК, такие как C _{max} , T _{max} , C _{trough} , C _{tau} , AUC(0-8), AUC(TAU), CLT/F, AI, CLR, %UR, MR_C _{max} и MR_AUC(TAU), если данные позволяют
3) Для характеристики иммуногенности ниволумаба при введении в комбинации с соединением С	2b) C _{max} и C _{trough} концентрации соединения С во время комбинированной терапии
4) Для оценки фармакодинамических эффектов соединения С в образцах опухолей	3) Частота выявления положительных антител к лекарственным препаратам (ADA) к ниволумабу во время комбинированной терапии 4) Снижение Treg и TAM в образцах опухолей

Сокращения: %UR = процент восстановления мочи за интервал дозирования; ADA = антитело против лекарственного средства; НЯ = нежелательные явления; AI = индекс накопления; AUC(0-8) = площадь под кривой зависимости концентрации от времени от 0 до 8 часов

после введения дозы; AUC(TAU) = площадь под кривой зависимости концентрации от времени в 1 интервале дозирования; CCR2 = цистеин-цистеиновый хемокиновый рецептор 2; CL = зазор; CLR = почечный клиренс; CLT/F = кажущийся общий зазор тела; C_{max} = максимальная наблюдаемая концентрация в плазме; CRC = колоректальный рак; C_{tau} = наблюдаемая концентрация в плазме в конце интервала дозирования; C_{trough} = минимальная наблюдаемая концентрация в плазме; DLT = токсичность, ограничивающая дозу; ЭКГ = электрокардиограммы; Gem = гемцитабин; MATE = белок экстружии лекарственных препаратов и токсинов; MCP-1 = хемотаксический белок моноцитов-1; MR_AUC(TAU) = отношение AUC(TAU) метаболита к исходного вещества AUC(TAU) с поправкой на молекулярную массу; MR_C_{max} = отношение C_{max} метаболита к C_{max} исходного вещества с поправкой на молекулярную массу; NMN = N-метилникотинамид; ОС = общая выживаемость; РК = фармакокинетика (и); СНЯ = серьезные нежелательные явления; ТАМ = ассоциированные с опухолью макрофаги; T_{max} = время максимальной наблюдаемой концентрации в плазме; T_{reg} = регуляторные Т-клетки

Таблица 4: Цели и конечные точки (Часть 2)

Цели	Конечные точки
Первичные 1) Для оценки предварительной эффективности соединения С в комбинации либо с FOLFIRI (группа А), Gem + наб-паклитаксел (группа В), либо ниволумабом (Группа С) у пациентов с поздними стадиями CRC и рака поджелудочной железы	1) Общая частота ответа, медианная продолжительность ответа и показатель выживаемости без прогрессирования через 24 недели
Вторичные 1) Для оценки безопасности и переносимости соединения С в комбинации либо с FOLFIRI (группа А), Gem + наб-паклитаксел (группа В), либо ниволумабом (Группа С) у пациентов с поздними стадиями CRC и рака поджелудочной железы 2) Оценить фармакодинамические эффекты соединения С в образцах опухолей.	1a) Частота возникновения НЯ, СНЯ, НЯ, приводящих к прекращению приема препарата и смерти; Частота лабораторных отклонений 1b) Сводные показатели жизненно важных функций или ЭКГ 2) Снижение Treg и TAM в образцах опухолей

Сокращения: ADA = антитело против лекарственного средства; НЯ = нежелательные явления; Gem = гемцитабин; СНЯ = серьезные нежелательные явления; Treg = регуляторные Т-клетки

Популяция исследования

Критерии включения (исследование открыто для всех полов, от 18 лет и старше):

- Участники должны иметь метастатический колоректальный рак или рак поджелудочной железы.
- Показатель общего состояния (статус) Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG) ≤ 1
- Возможность глотать таблетки или капсулы
- Все участники должны будут пройти обязательную биопсию до и во время лечения.
- Адекватная функция костного мозга
- Адекватные функции других органов

- Способность соблюдать посещения врача в ходе исследования, лечение, процедуры, сбор образцов РК и PD, а также необходимое последующее наблюдение за исследованием

Критерий исключения:

- Гистология, отличная от аденокарциномы (нейроэндокринная или ацинарная клетка)
- Подозреваемые, известные или прогрессирующие метастазы в ЦНС (визуализация требуется только при наличии симптомов у участников)
- Участники с активным, известным или подозреваемым аутоиммунным заболеванием
- Участники с состоянием, требующим системного лечения кортикостероидами (> 10 мг эквивалентов преднизона в день) или другими иммунодепрессантами в течение 14 дней после введения исследуемого препарата.
- Интерстициальное заболевание легких, которое является симптоматическим или может помешать выявлению или лечению предполагаемой легочной токсичности, связанной с лечением
- Предварительное лечение ингибиторами CCR2 и/или CCR5
- Наличие в анамнезе аллергии на исследуемое лечение или любой из его компонентов в группе исследования, в которой участвует участник.

Период лечения (Часть 1)

Период лечения (часть 1) будет иметь 2-недельную вводную монотерапию соединением С до комбинации либо с FOLFIRI, Gem/наб-паклитакселом, либо с ниволумабом. Все три группы будут набирать участников параллельно. Участники будут распределены в когорту 300 мг соединения С два раза в сутки или 600 мг один раз в сутки в каждой группе исследования. Приблизительно 6 оцениваемых участников будут лечиться каждой дозой соединения С (то есть, 300 мг два раза в сутки или 600 мг один раз в сутки), в общей сложности, приблизительно 12 участников на группу. К когорте доз могут быть добавлены до 6 дополнительных участников, чтобы лучше охарактеризовать профиль безопасности, РК- или PD-профиль и получить информацию относительно выбора дозы соединения С в части 2, если необходимо, после обсуждения со спонсором и исследователями.

Вводная монотерапия соединением С позволяет оценить начальную переносимость у участников с раковым заболеванием, облегчая характеристику

добавленной или синергической токсичности последующих комбинаций лекарственных препаратов, и делает возможной биопсию через 2 недели, чтобы охарактеризовать PD-эффекты соединения С. Через 2 недели монотерапии соединением С участники начнут фазу комбинации либо с FOLFIRI, Gem/наб-паклитакселом, либо с ниволумабом, наряду с продолжающимся лечением соединением С, после выполнения обязательной биопсии (± 3 дней). Монотерапию следует продолжать, если биопсия проводится после 2 недель, и комбинацию с химиотерапией или ниволумабом следует начинать только после проведения биопсии. Участники будут продолжать принимать комбинацию до прогрессирования заболевания, непереносимости, соответствия критериям для прекращения лечения или отзыва согласия.

Период лечения (часть 2)

В период лечения (часть 2) будут изучены предварительные сигналы эффективности соединения С с различными комбинациями, как описано ниже. Часть 2 будет открыта для регистрации после того, как доза соединения С и график приема будут выбраны из доз, исследуемых в части 1. Доза соединения С в части 2 будет выбрана на основе данных по безопасности, PK- и PD-данных, доступных из части 1 исследования, и не будет превышать дозировку и график приема, определенные как безопасные в части 1. Участники в части 2 будут лечиться соединением С комбинации либо с FOLFIRI, Gem/наб-паклитакселом, либо с ниволумабом без вводной монотерапии соединением С.

Первоначально будет три группы исследования (группы А, В и С), содержащие, в общей сложности, 6 когорт (от 30 до 40 участников в каждой когорте). Группа D (монотерапия соединением С) откроется, если участники группы С показывают частоту объективного ответа (ЧОО) около 15% или наблюдаются длительные реакции с комбинацией ниволумаба и соединения С.

Биопсия будет сделана через 4 недели (± 3 дня) после первой дозы в части 2 для корреляционных исследований. Участники, принимающие бевацизумаб в группе А, не должны принимать бевацизумаб в течение по меньшей мере 14 дней или в соответствии с инструкциями учреждения, чтобы предотвратить кровотечение или задержку заживления ран.

Участники будут продолжать прием комбинации до прогрессирования заболевания, непереносимости, соответствия критериям прекращения лечения или отзыва согласия.

Период лечения (части 1 и 2)

Будут собраны образцы крови, мочи, стула, биопсии опухоли и электрокардиограммы (ЭКГ), и участники получают исследуемый курс лечения в соответствии с графиком мероприятий. Участники получают исходную визуализацию в течение приблизительно 28 дней после начала исследования, а затем каждые 8 недель после начала комбинированного лечения для повторной оценки. Прогрессирование опухоли или конечные точки ответа будут оцениваться с использованием RECIST v1.1 для солидных опухолей. Участники будут продолжать лечение до прогрессирования заболевания, клинического ухудшения, токсичности, соответствия критериям для прекращения исследуемого лечения или отзыва согласия. За участниками, прекратившими лечение, будут следить для оценки безопасности и выживаемости.

Участники с ответом SD, PR или CR в конце данного цикла переходят к следующему циклу лечения. Участникам, как правило, разрешается продолжать лечение в рамках исследования до первого появления: 1) PD, 2) клинического ухудшения, предполагающего, что дальнейшая польза от лечения маловероятна, 3) непереносимости терапии, 4) участника, соответствующего критериям для прекращения лечения в рамках исследования.

Физические обследования, измерения показателей жизнедеятельности, электрокардиограммы (ЭКГ) в 12 отведениях и клинические лабораторные исследования будут проводиться в выбранное время в течение интервала дозирования. Если в один момент времени требуется несколько процедур, ниже приводится список процедур от наивысшего приоритета до низкого: отбор проб, ЭКГ и показатели жизненно важных функций и лабораторные тесты. На протяжении всего исследования участники будут тщательно контролироваться на предмет НЯ. Образцы крови и мочи будут собираться на исходном уровне и после введения исследуемого препарата для биомаркерных анализов РК и белка экстрезии лекарственных препаратов и токсинов (МАТЕ) - почечного переносчика в соответствии с графиками фармакокинетических исследований.

Группы и продолжительность лечения:

Таблица 5. Исследуемый лекарственный препарат:

Медикамент	Потенция
Капсула соединения С	150 мг
Ниволумаб для инъекций ^a	100 мг/флакон (10 мг/мл)

Медикамент	Потенция
Ниволумаб для инъекций ^a	40 мг/флакон (10 мг/мл)
Гемцитабин для инъекций ^b	1000 мг/флакон и различные концентрации
Наб-паклитаксел (ABRAXANE) ^b	100 мг/флакон и различные концентрации
5-FU ^b	Различные концентрации
Лейковорин ^b	Различные концентрации
Иринотекан ^b	Различные концентрации

^a Ниволумаб будет поставляться в виде набора 240 мг - каждый набор, содержащий (2) флаконы по 100 мг и (1) 40 мг флакон

^b Данные продукты будут приобретаться как местный коммерческий продукт в странах, если это разрешено местным законодательством, или путем изучения стандартных процедур назначения рецептов на месте, в противном случае, данные продукты будет поставлять спонсор.

Таблица 6: Выбор и время введения дозы

Исследуемый лекарственный препарат	Уровень(и) дозировки	Частота введения	Путь введения
Соединение С (капсула 150 мг)	300 мг	BID	PO
Соединение С (капсула 150 мг)	600 мг	QD	PO
Соединение С (капсула 150 мг)	600 мг	BID	PO
Ниволумаб	480 мг IV	Q4W	IV инфузия
5-FU	Болюс 400 мг/м ² И 2400 мг/м ² IV	День 1, 15: Q4W	Болюсная и IV инфузия
Лейковорин	400 мг/м ² IV	День 1, 15: Q4W	IV инфузия
Иринотекан	180 мг/м ² IV	День 1, 15: Q4W	IV инфузия
Гемцитабин	1000 мг/м ² IV	День 1, 8, 15: Q4W	IV инфузия
Наб- паклитаксел (ABRAXANE)	125 мг/м ² IV	День 1, 8, 15: Q4W	IV инфузия

Сокращения: 5-FU = 5-фторурацил; BID = два раза в день; IV = внутривенно; PO = per os (внутри[перорально]); Q4W = каждые 4 недели; QD = один раз в день

^a Может быть исследована схема 600 мг BID, чтобы исследовать PK/PD отношения соединения С для потенциальной оптимизации дозы. (См. Раздел 5.5.1)

FOLFIRI (иринотекан 180 мг/м² в 1-й день в течение 90 минут; лейковорин 400 мг/м² в течение 2 часов в 1-й день (лейковорин можно вводить одновременно с иринотеканом); 5-FU 400 мг/м² болюс в 1-й день и затем 2400 мг/м² в течение 46 часов непрерывной инфузии) в 1-й и 15-й дни 28-дневного цикла. Бевацизумаб, цетуксимаб или панитумумаб могут быть добавлены к 1L FOLFIRI, если необходимо, и будут вводиться в соответствии с маркировкой, утвержденной местными органами

здравоохранения для данных средств. Леволейковорин можно заменить на лейковорин, или можно использовать фиксированную дозу лейковорина в соответствии со стандартной практикой на месте.

Рекомендованная доза наб-паклитаксела (ABRAXANE) составляет 125 мг/м², которую вводят в виде внутривенной инфузии в течение от 30 до 40 минут в дни 1, 8, и 15 каждого 28-дневного цикла. Введение гемцитабина 1000 мг/м² в течение от 30 до 40 минут непосредственно после наб-паклитаксела в дни 1, 8, и 15 каждого 28-дневного цикла.

Ниволумаб 480 мг вводят в виде внутривенной инфузии в течение 30 минут каждые 4 недели.

Продолжительность лечения: участники будут получать лечение до прогрессирования заболевания, непереносимости лечения, соответствия критериям прекращения лечения или отзыва согласия. Участники могут получать лечение после прогрессирования, если они соответствуют критериям, изложенным в разделе 7.4.8. Участники, которые частично или полностью прекратили химиотерапию из-за непереносимости, могут продолжить исследование соединения С после обсуждения исследователя с медицинским наблюдателем или назначенным спонсором. Участники продолжают получать оценки всех исследований в соответствии с графиком мероприятий для оценок исследования и процедур для продолжающегося лечения в разных группах.

Оценка эффективности

Оценка болезни с компьютерной томографией (КТ) и/или МРТ (магнитно-резонансной томографией), по мере необходимости, будет выполняться на исходном уровне и приблизительно каждые 8 недель ($\pm$ 1 неделя от 1-го дня цикла 1) до прогрессирования заболевания, прекращения лечения, ухода из исследования или начала последующего лечения, в зависимости от того, что наступит раньше.

Оценка изображений для исследования

Оценка опухолевого заболевания с помощью компьютерной томографии с контрастным усилением, полученной на специальном компьютерном оборудовании, является предпочтительной для данного исследования. Для оценки опухоли следует выполнять КТ с контрастированием грудной клетки, брюшной полости, таза и других известных/предполагаемых участков заболевания. Если участник имеет противопоказание для КТ внутривенного контрастирования, должны быть получены

неконтрастная КТ грудной клетки и МРТ с контрастным усилением брюшной полости, таза и других известных/предполагаемых участков заболевания.

Если участнику противопоказано внутривенное контрастирование как при МРТ, так и при КТ, должны быть получены неконтрастная КТ грудной клетки и неконтрастная МРТ брюшной полости, таза и других известных/предполагаемых участков заболевания.

Если у участника есть противопоказания для МРТ (например, несовместимый кардиостимулятор) в дополнение к противопоказанию к КТ с внутривенным контрастированием, допускается неконтрастная КТ грудной клетки, брюшной полости, таза и других известных/предполагаемых участков заболевания.

КТ и МРТ должны быть получены с толщиной срезов в 5 мм или меньше без промежуточных разрывов (непрерывно). Следует предпринять все усилия для визуализации каждого участника с использованием идентичного протокола получения для всех временных точек визуализации.

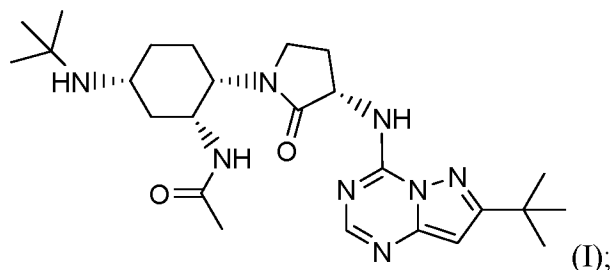
Использование КТ-компонента в сканере позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ)-КТ: комбинированное сканирование, такое как ПЭТ-КТ с фтордезоксиглюкозой (ФДГ) все чаще используется в клинической практике и представляет собой способ/технология, которая быстро развивается; поэтому изложенные в данном документе рекомендации могут со временем измениться довольно быстро. В настоящее время полученные с низкой дозой облучения или коррекцией затухания КТ-части при комбинированной ПЭТ-КТ с ФДГ имеют ограниченное применение при основывающейся на анатомии оценке эффективности и поэтому предлагается не заменять их специализированными диагностическими КТ с контрастным усилением для анатомических измерений по критериям RECIST. Однако, если сайт (лаборатория, объект) может документально подтвердить, что КТ, выполняемая как часть ПЭТ-КТ с ФДГ, имеет диагностическое качество, идентичное диагностическому качеству диагностической КТ (с внутривенным и пероральным контрастированием), то часть КТ от ПЭТ-КТ с ФДГ может использоваться для измерений по критериям RECIST 1.1. Обратите внимание, однако, что ПЭТ-ФДГ часть КТ вводит дополнительные данные, которые могут приводить к систематическим ошибкам исследователя, если подобные исследования не выполняются регулярно или серийно.

Участникам, имеющим в анамнезе метастазы в костях, может быть проведено сканирование костей при наличии клинических показаний.

Оценка будет проводиться на исходном уровне и в моменты времени, как описано в соответствии с критериями RECIST v1.1, до прогрессирования заболевания в соответствии с критериями RECIST v1.1 или до выхода из исследования.

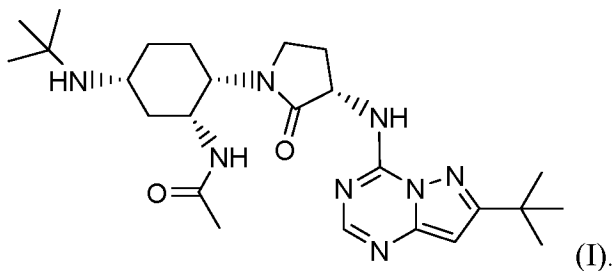
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту комбинации моноклонального антитела, соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, или их комбинации,



и/или химиотерапии.

2. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту комбинации моноклонального антитела и соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, или их комбинации,



3. Способ по п. 1, в котором количество соединения формулы (I), вводимое субъекту, составляет от около 25 мг в день до около 1200 мг в день.

4. Способ по п. 3, в котором количество соединения формулы (I), вводимое субъекту, составляет от около 100 мг в день до около 1200 мг в день.

5. Способ по п. 4, в котором количество соединения формулы (I), вводимое субъекту, составляет от около 200 мг в день до около 1200 мг в день.

6. Способ по п. 5, в котором количество соединения формулы (I), вводимое субъекту, составляет от около 300 мг в день до около 1200 мг в день.

7. Способ по п. 6, в котором количество соединения формулы (I), вводимое субъекту, составляет от около 600 мг в день до около 1200 мг в день.

8. Способ по п. 3, в котором количество соединения формулы (I), вводимое субъекту, составляет от около 25 мг в день до около 600 мг в день.

9. Способ по п. 8, в котором количество соединения формулы (I), вводимое субъекту, составляет от около 25 мг в день до около 600 мг в день.

10. Способ по п. 9, в котором количество соединения формулы (I), вводимое субъекту, составляет от около 100 мг в день до около 600 мг в день.

11. Способ по п. 10, в котором количество соединения формулы (I), вводимое субъекту, составляет от около 200 мг в день до около 600 мг в день.

12. Способ по п. 11, в котором количество соединения формулы (I), вводимое субъекту, составляет от около 300 мг в день до около 600 мг в день.

13. Способ по п. 1, в котором количество соединения формулы (I) вводят в дозах 300 и 600 мг один раз или два раза в день.

14. Способ по п. 1, в котором рак представляет собой злокачественную солидную опухоль.

15. Способ по п. 14, в котором рак является метастатическим и/или неоперабельным.

16. Способ по п. 15, в котором рак выбран из колоктерального рака, рака поджелудочной железы, рака печени и рака легкого, или их комбинации.

17. Способ по п. 16, в котором рак является колоректальным раком или раком поджелудочной железы.

18. Способ по п. 17, в котором субъект получил по меньшей мере одну предшествующую терапию для лечения рака.

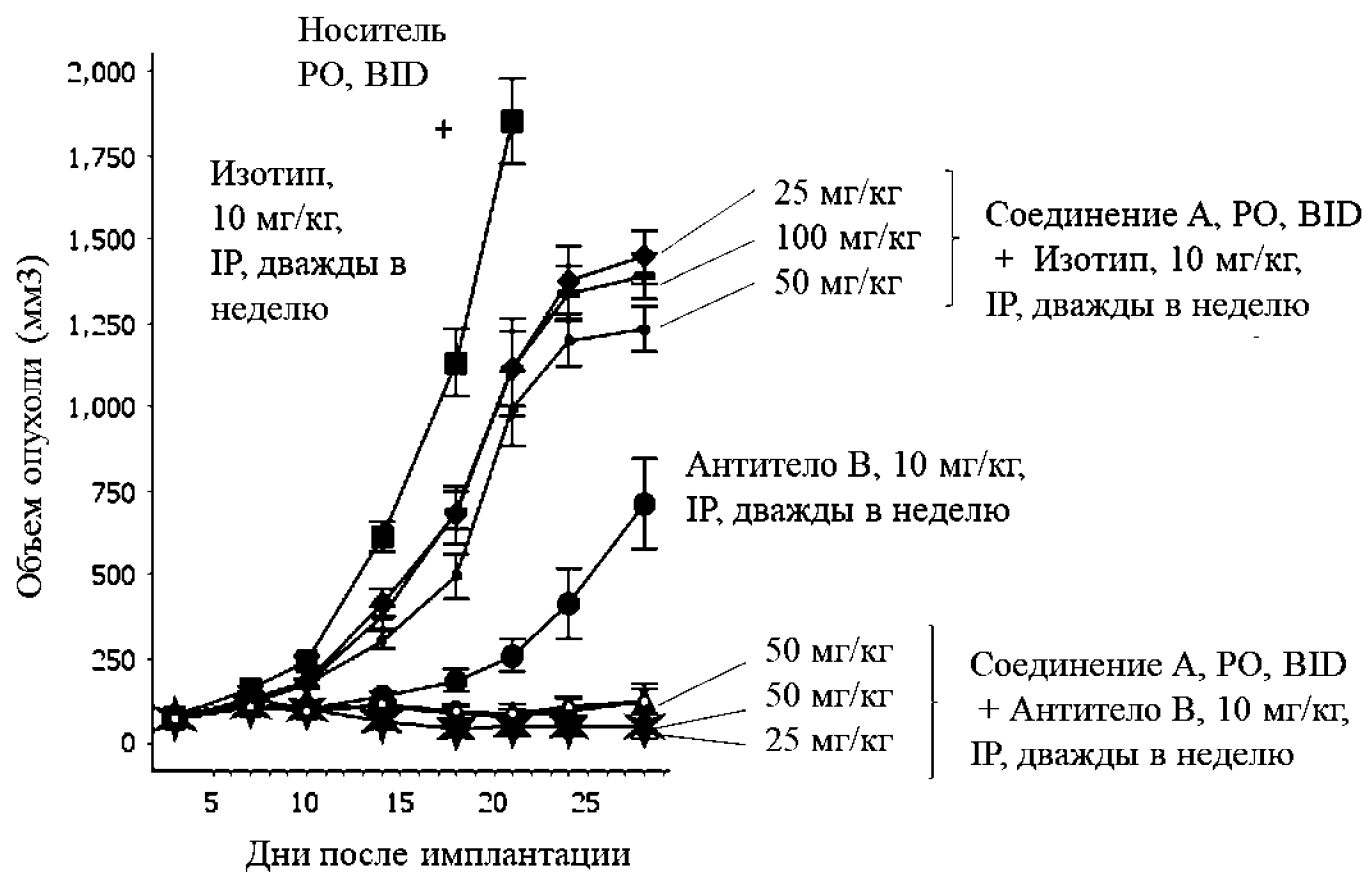
19. Способ по п. 17, в котором субъект ранее не подвергался лечению.

20. Способ по п. 19, в котором моноклональное антитело представляет собой ниволумаб.

21. Способ по п. 20, в котором ниволумаб вводят путем внутривенной инфузии в дозе около 480 мг каждые 4 недели.

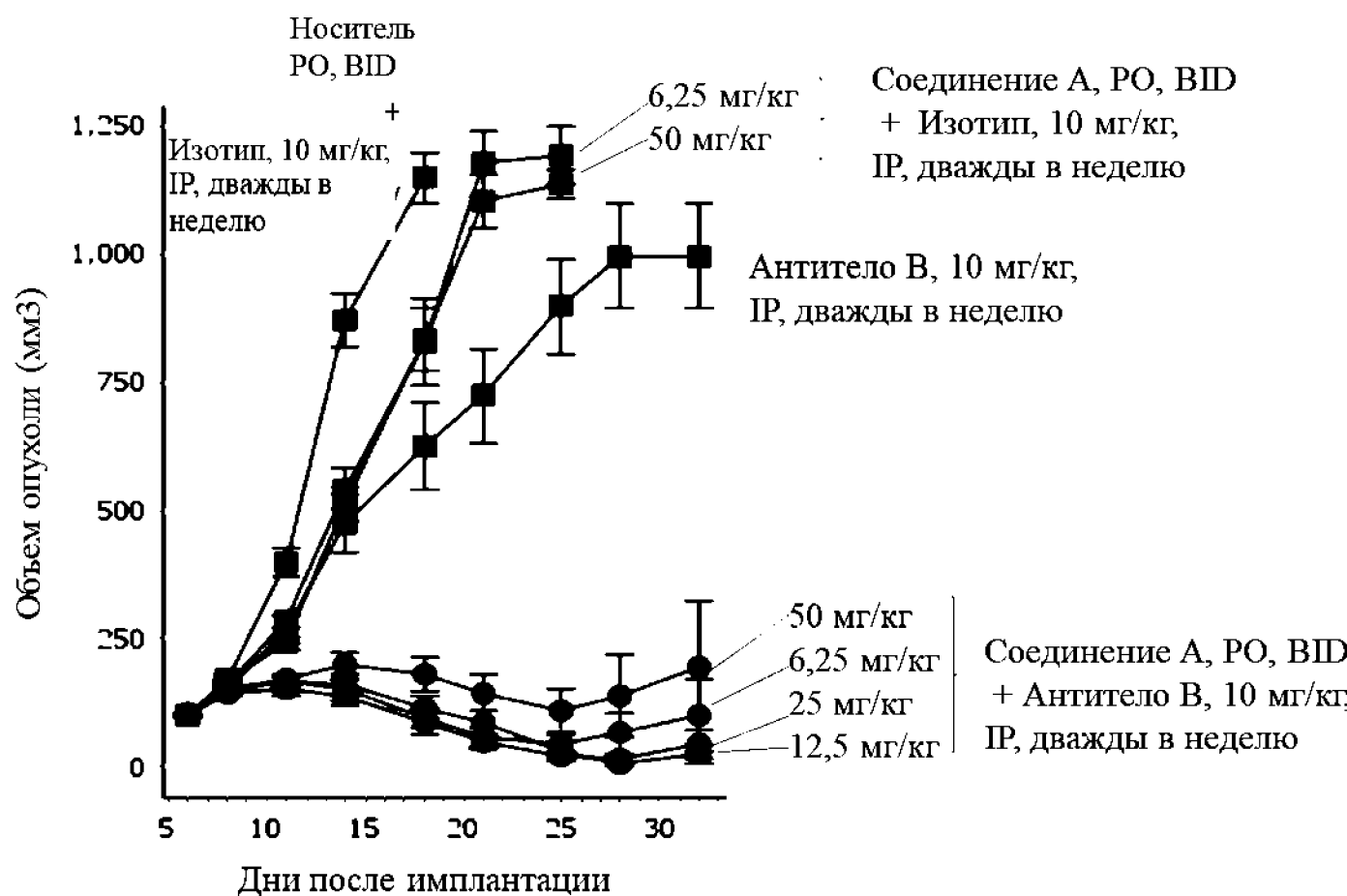
22. Способ по п. 21, в котором химиотерапия представляет собой FOLFIRI или Gem/ABRAXANE.

Синергическая комбинация соединения А с антителом В против прогрессирования
опухоли (МС38) толстой кишки мыши



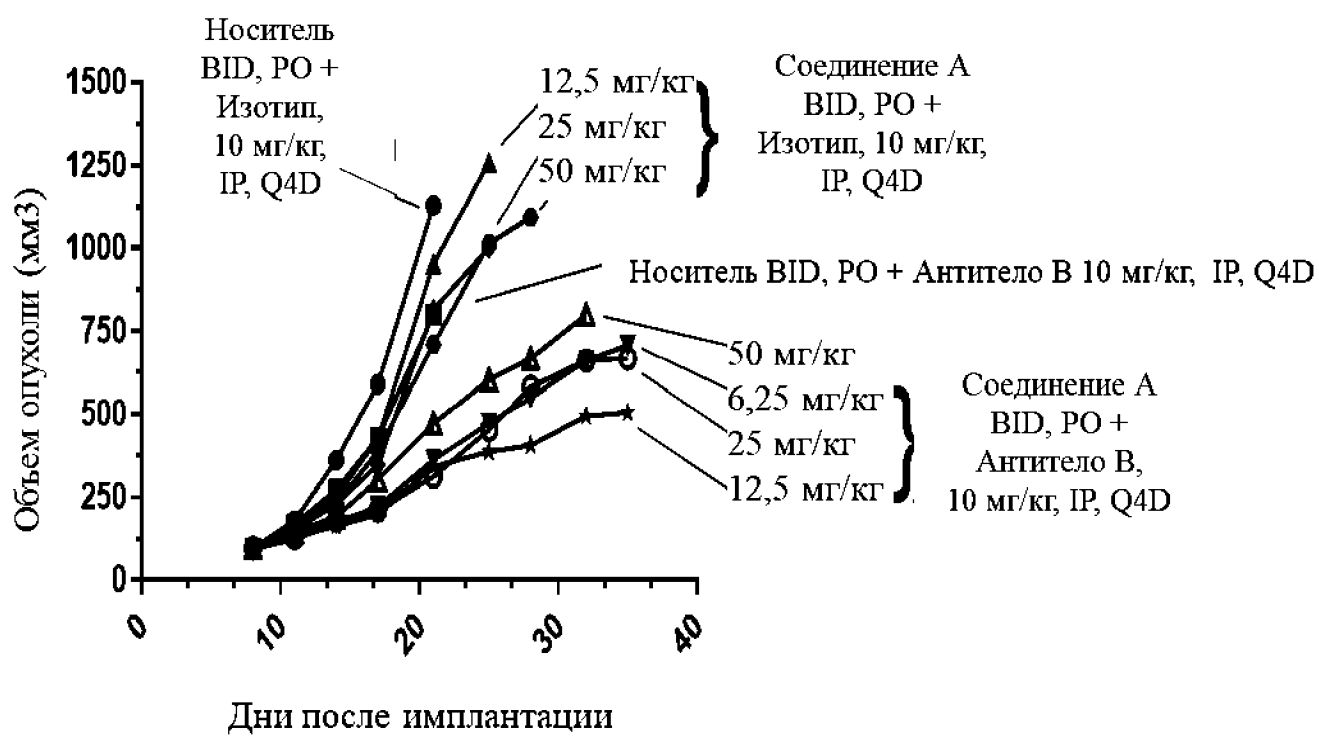
ФИГ 1

Синергическая комбинация соединения А с антителом В против прогрессирования
опухоли (МС38) толстой кишки мыши



ФИГ 2

Синергическая комбинация соединения А с антителом В против прогрессирования
опухоли (СТ26) толстой кишки мыши



ФИГ 3