

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **037552**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2021.04.13**

(51) Int. Cl. *A61K 31/519* (2006.01)  
*C07D 471/12* (2006.01)

(21) Номер заявки  
**201791727**

(22) Дата подачи заявки  
**2016.01.29**

(54) **7-БЕНЗИЛ-4-(2-МЕТИЛБЕНЗИЛ)-2,4,6,7,8,9-ГЕКСАГИДРОИМИДАЗО[1,2-А]ПИРИДО[3,4-Е]ПИРИМИДИН-5(1H)-ОН, ЕГО АНАЛОГИ И СОЛИ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В ТЕРАПИИ**

(31) **62/109,737; 62/148,844; 62/233,757**

(32) **2015.01.30; 2015.04.17; 2015.09.28**

(33) **US**

(43) **2018.01.31**

(86) **PCT/US2016/015817**

(87) **WO 2016/123571 2016.08.04**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**ОНКОСЬЮТИКС, ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:  
**Стогниев Маргин, Аллен Джошуа Э.,  
Потторф Ричард С., Наллаганчу  
Бхаскара Рао, Олсон Гэри Л., Сунь  
Яньцзюнь (US)**

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

(56) PUBCHEM-CID 72716768 Create Date 07 February 2014 (07.02.2014) pg 3 Figure

JACOB et al. "Pharmacophore Reassignment for Induction of the Immunosurveillance Cytokine TRAIL", *Angew Chem Int. Ed.*, 18 May 2014, Vol 53, pp 6628-6631, pg 6628, Fig 1, pg 6628, col 1, para 1, pg 6630, col 2, para 3

US-A1-20140271540

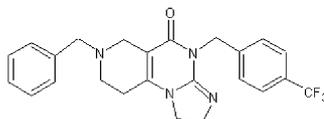
JACOB et al. "Pharmacophore Reassignment for Induction of the Immunosurveillance Cytokine TRAIL", *Angew Chem Int. Ed.*, 18 May 2014, Vol 53, pp 6628-6631 pg 6628, Fig 1, pg 6628, col 1, para 1, pg 6630, col 2, para 3

US-B2-6869958

WO-A2-2012149546

DE-A1-2150062

(57) Изобретение относится к соединению формулы



и его фармацевтически приемлемым солям, а также содержащей его фармацевтической композиции. Предложено применение соединения и композиции для лечения рака, а также способ лечения рака, включающий введение указанного соединения и его солей субъекту, нуждающемуся в таком лечении.

**B1****037552****037552****B1**

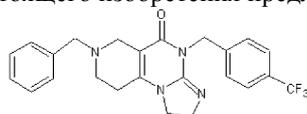
### Уровень техники

TNF-связанный апоптоз-индуцирующий лиганд (TRAIL; Apo2L) представляет собой эндогенный белок, который избирательно индуцирует апоптоз в раковых клетках. TRAIL является мощным индуктором апоптоза для широкого спектра раковых клеточных линий человека через проапоптотический рецептор смерти 4 (DR4; TRAIL-R1) и рецептор смерти 5 (DR5; TRAIL-R2) на клеточной поверхности через внешние или внутренние пути апоптоза. TRAIL играет непосредственную роль в подавлении опухоли в процессе иммунного надзора, но этот противоопухолевый механизм утрачивается во время прогрессирования заболевания. Способность TRAIL избирательно инициировать апоптоз в раковых клетках привела к проводимым в настоящее время клиническим испытаниям с введением рекомбинантного TRAIL и более долгоживущих антител-агонистов TRAIL, направленных на два его проапоптотических рецептора смерти.

Несмотря на свою активность, рекомбинантный TRAIL имеет свойства, ограничивающие его эффективность, такие как короткий период полувыведения из сыворотки крови, стабильность, стоимость и доставка. Доставка рекомбинантного TRAIL или антител-агонистов TRAIL к мозгу ограничена неспособностью рекомбинантного TRAIL и антител-агонистов TRAIL преодолевать гематоэнцефалический барьер. Соответственно существует постоянная потребность в противораковых композициях и способах.

### Краткое описание изобретения

В одном варианте реализации настоящего изобретения предложено соединение формулы



или его фармацевтически приемлемая соль.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции для лечения рака, содержащей соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная соль представляет собой фармацевтически приемлемую дисоль указанного соединения. В одном варианте реализации указанная дисоль представляет собой гидрохлоридную дисоль.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения рака, включающий введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, фармацевтически приемлемого количества соединения по изобретению или его фармацевтически приемлемой соли.

В одном варианте реализации указанного способа лечения указанный субъект, подвергаемый лечению, имеет или подвержен риску наличия рака. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный рак выбран из группы, состоящей из рака толстой кишки, рака молочной железы, мультиформной глиобластомы, мантийноклеточной лимфомы и колоректального рака. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный рак выбран из группы, состоящей из актинического кератоза, пищевода Барретта, атрофического гастрита, врожденного дискератоза, сидеропенической дисфагии, красного плоского лишая, подслизистого фиброза полости рта, солнечного эластоза, цервикальной дисплазии, лейкоплакии и эритроплакии.

В одном варианте реализации указанного способа лечения указанную фармацевтическую композицию вводят перорально. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят через путь введения, выбранный из группы, состоящей из внутривенного, ректального, назального, легочного, эпидурального, глазного, ушного, внутриартериального, местного, внутрисердечного, интрацеребровентрикулярного, внутрикожного, внутримышечного, внутрибрюшинного, внутрикостного, интратрахеального, интравезикального, подкожного, трансдермального, трансмукозального, сублингвального, буккального, вагинального и ингаляционного пути введения.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанный субъект имеет или может иметь рак. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанный субъект заражен или может быть заражен вирусом. В некоторых вариантах реализации настоящего описания указанный субъект представляет собой человека. В некоторых вариантах реализации доза соединения или его фармацевтически приемлемой соли составляет от примерно 125 до примерно 625 мг. В некоторых вариантах реализации образец, полученный от субъекта, анализируют на расщепленный и/или общий цитокератин-18, определяя, следует ли продолжать схему лечения на основании результатов анализа расщепленного и/или общего цитокератина-18. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения описанная в настоящем документе схема лечения дополнительно включает стадию введения второго терапевтического агента, где соединение, его фармацевтически приемлемую соль или его аналог вводят до, одновременно или после указанного второго терапевтического агента.

Вышеизложенное краткое описание изобретения, а также нижеследующее подробное описание вариантов реализации указанных композиций и способов лечения, будут более понятны при их прочтении совместно с прилагаемой формулой изобретения. Однако должно быть понятно, что настоящее изобретение не ограничивается точными сочетаниями и инструментарием, описанными в настоящем документе.

### Краткое описание графических материалов

Вышеизложенное краткое описание изобретения, а также последующее подробное описание вариантов реализации настоящего изобретения будут более понятны при их прочтении совместно с прилагаемыми чертежами иллюстративного варианта реализации. Однако должно быть понятно, что настоящее изобретение не ограничивается представленными точными сочетаниями и инструментарием.

На чертежах:

на фиг. 1 показана зависимость "доза-эффект", показывающая влияние различных концентраций соединения (1) на жизнеспособность опухолевых и нормальных клеток; и

На фиг. 2 показан анализ жизнеспособности клеток на фибробластах легких эмбриона человека (MRC-5) после 72-часовой обработки соединением (1).

На фиг. 3 проиллюстрирован антагонизм ONC201 допаминового рецептора (DRD1, DRD2S, DRD2L, DRD3, DRD4 и DRD5).

На фиг. 4 показан растворимый пролактин, обнаруженный методом ELISA в периферической крови у пациентов с распространенной солидной опухолью, на исходном уровне и после одной дозы ONC201 (PO 125-625 мг). Моменты выборки времени после введения включают 6 ч, 1, 2, 7 и 21 день после введения.

На фиг. 5A-5B показаны средние значения концентрации ONC201 в плазме в зависимости от времени после первой дозы ONC201. Концентрации показаны как (A) среднего для когорты каждой дозы, или (B) для лиц, получавших лечение при 625 мг. Шкала ошибок указывает стандартное отклонение.

На фиг. 6A-6B показаны отдельные измерения ONC201 (A) AUC и (B) C<sub>max</sub> в зависимости от дозы. \* - предполагаемая линия пропорциональности дозы базируется на группе мужчин при дозе в 625 мг.

На фиг. 7A-7B показано соотношение анализа M30 (A) в зависимости от времени введения первой дозы для четырех пациентов и (B) в зависимости от типа опухоли.

Фиг. 8 иллюстрирует чувствительность *in vitro* типов опухолей, определенных в большом наборе клеточных линий из программы Genomic of Drug Sensitivity in Cancer (GDSC).

### Подробное описание изобретения

Предполагается, что научные и технические термины, используемые в настоящем документе, имеют обычные значения, понятные обычным специалистам в данной области техники. Такие термины определены и используются в контексте различных стандартных ссылок, включая, например, J. Sambrook и D.W. Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; 3rd Ed., 2001; F.M. Ausubel, Ed., *Short Protocols in Molecular Biology*, Current Protocols; 5th Ed., 2002; B. Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell*, 4th Ed., Garland, 2002; D.L. Nelson and M.M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 4th Ed., W.H. Freeman & Company, 2004; Engelke, D.R., *RNA Interference (RNAi): Nuts and Bolts of RNAi Technology*, DNA Press LLC, Eagleville, Pa., 2003; Herdewijn, P. (Ed.), *Oligonucleotide Synthesis: Methods and Applications*, Methods in Molecular Biology, Humana Press, 2004; A. Nagy, M. Gertsenstein, K. Vintersten, R. Behringer, *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual*, 3rd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Dec. 15, 2002, ISBN-10: 0879695919; Kursad Turksen (Ed.), *Embryonic stem cells: methods and protocols in Methods Mol Biol.* 2002; 185, Humana Press; Current Protocols in Stem Cell Biology, ISBN: 9780470151808, а также патент США № 8673923. Содержание каждой из вышеприведенных ссылок включено в настоящее описание посредством ссылки во всей их полноте.

Настоящее изобретение включает фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных в настоящем документе. Используемый в настоящем документе термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к производным раскрытых соединений, в которых исходное соединение модифицировано путем превращения существующего фрагмента кислоты или основания в форму соли. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваются ими, соли минеральных или органических кислот основных остатков, таких как амины; щелочных или органических солей кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты; и тому подобное. Фармацевтически приемлемые соли согласно настоящему изобретению включают обычные нетоксичные соли исходного соединения, образованного, например, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Фармацевтически приемлемые соли согласно настоящему изобретению синтезируют обычными химическими способами из исходного соединения, которое содержит основную или кислотную часть. Обычно указанные соли можно получить путем взаимодействия свободной кислотной или основной форм указанных соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе или в смеси двух этих соединений; обычно предпочтительны неводные среды, такие как эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил. Списки подходящих солей можно найти в Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 17<sup>th</sup> ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418, *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2 (1977) и в P.H. Stahl and C.G. Wermuth, editors, *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, 2<sup>nd</sup> Revised edition, Weinheim/Zürich: Wiley-VCH/VHCA (2011), каждая публикация включена в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

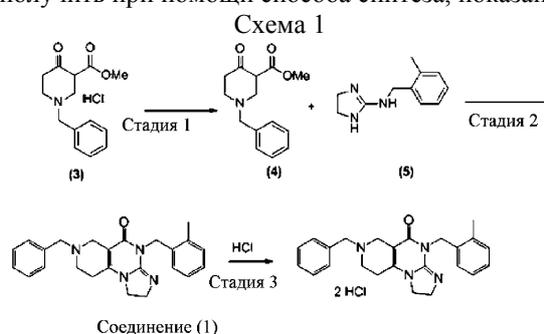
Примеры подходящих неорганических кислот включают соляную кислоту, серную кислоту, фосфорную кислоту или бромистоводородную кислоту, в то время как примеры подходящих органических кислот могут включать карбоновую кислоту, сульфокислоту или сульфоновую кислоту, такую как ук-

сусная кислота, винная кислота, молочная кислота, пропионовая кислота, гликолевая кислота, малоновая кислота, малеиновая кислота, фумаровая кислота, дубильная кислота, янтарная кислота, альгиновая кислота, бензойная кислота, 2-феноксibenзойная кислота, 2-ацетоксибензойная кислота, коричная кислота, миндальная кислота, лимонная кислота, малеиновая кислота, салициловая кислота, трифторуксусная кислота, 3-аминосалициловая кислота, аскорбиновая кислота, эмбоновая кислота, никотиновая кислота, изоникотиновая кислота, щавелевая кислота, глюконовая кислота, аминокислоты, метансульфоная кислота, этансульфоная кислота, 2-гидроксиэтансульфоная кислота, этан-1,2-дисулфоная кислота, бензолсульфоная кислота, 4-метилбензолсульфонокислота или нафталин-2-сульфоная кислота. Примеры подходящих неорганических оснований могут включать гидроксид натрия, гидроксид калия и аммиак, в то время как примерами подходящих органических оснований являются амины, например третичные амины, такие как триметиламин, триэтиламин, пиридин, N,N-диметиланилин, хинолин, изохинолин,  $\alpha$ -пиколин,  $\beta$ -пиколин,  $\gamma$ -пиколин, хинальдин или пиримидин.

I. Синтез соединения (1) и его солей (иллюстративное описание).

Авторы изобретения обнаружили на моделях *in vitro*, на моделях животных и в клинических испытаниях у человека, что ONC201 (соединение (1)) обладает широкой противораковой активностью, низкой токсичностью, включая незначительные, если таковые имеются, побочные действия, низкую генотоксичность и высокую биодоступность, включая пероральную биодоступность. Благодаря указанным особенностям ONC 201 различные аналоги особенно хорошо подходят для различных применений.

Соединение (1) можно получить при помощи способа синтеза, показанного на схеме 1 ниже



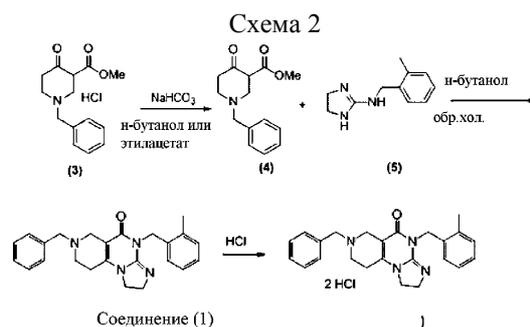
В одном варианте реализации синтез дигидрохлоридной соли соединения (1) начинают с коммерчески доступного промежуточного гидрохлорида N-бензил-3-карбометокси-4-пиперидона, соединение (3). В одном варианте реализации процесс синтеза включает нейтрализацию промежуточного соединения (3) с помощью основания (стадия 1) с получением соединения (4), свободного основания. В одном варианте реализации процесс синтеза включает нейтрализацию промежуточного соединения (3) с помощью неорганического основания с получением соединения (4). В одном варианте реализации процесс синтеза включает нейтрализацию промежуточного соединения (3) с помощью органического основания с получением соединения (4). В одном варианте реализации промежуточное соединение (3) нейтрализуют в присутствии спирта. Например, промежуточное соединение (3) нейтрализуют в присутствии н-бутанола. В одном варианте реализации настоящего изобретения промежуточное соединение (3) нейтрализуют в присутствии по меньшей мере одного органического растворителя. Например, промежуточное соединение (3) нейтрализуют в присутствии н-бутанола и/или этилацетата. В одном варианте реализации настоящего изобретения промежуточное соединение (3) нейтрализуют в присутствии основания и по меньшей мере одного органического растворителя. Например, промежуточное соединение (3) нейтрализуют в присутствии  $\text{NaHCO}_3$  и н-бутанола. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанное промежуточное соединение (3) нейтрализуют в присутствии н-бутанола и триэтиламина ( $\text{Et}_3\text{N}$ ).

В одном варианте реализации настоящего изобретения процесс синтеза включает взаимодействие указанного соединения (4) с соединением (5) (стадия 2) с получением промежуточного соединения для (1). В одном варианте реализации реакция на стадии 2 включает нагревание указанного соединения (4) с соединением (5). В одном варианте реализации настоящего изобретения указанное взаимодействие на стадии 2 включает нагревание с обратным холодильником указанных соединения (4) и соединения (5) в присутствии растворителя. В одном варианте реализации реакция на стадии 2 включает использование ловушки Дина-Старка для удаления воды и/или метанола ( $\text{MeOH}$ ), образующихся в реакции.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный процесс синтеза включает образование дигидрохлоридной соли указанного соединения (1) (стадия 3). В одном варианте реализации настоящего изобретения указанное взаимодействие на стадии 3 включает обработку соединения (1) с помощью  $\text{HCl}$  в диоксане. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанное взаимодействие на стадии 3 включает обработку соединения (3) с помощью 4N  $\text{HCl}$  в диоксане. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный процесс синтеза необязательно включает рекристаллизацию соли соединения (1).

В одном предпочтительном варианте реализации настоящего изобретения указанный процесс син-

теза для получения дигидрохлоридной соли соединения (1) представляет собой такой, как проиллюстрировано на схеме 2 ниже



## II. TNF-связанный апоптоз-индуцирующий лиганд ("trail") (иллюстративное описание).

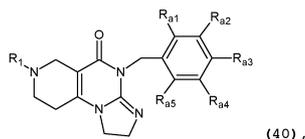
Белок TRAIL можно проанализировать в тестируемом образце, полученном от субъекта, для выявления экспрессии TRAIL, индуцированной соединениями или их фармацевтически приемлемыми солями, описанными в настоящем документе. Для анализа TRAIL в образце можно применять иммунологические методы, включая, но не ограничиваясь ими, ферментсвязанный иммуносорбентный анализ (ELISA), ферментсвязанный иммунофилтративный анализ (ELIFA), проточную цитометрию, иммуноблот, иммунопреципитацию, иммуногистохимию, иммуноцитохимию, люминесцентный иммуноанализ (ЛИА), флуоресцентный иммуноанализ (ФИА) и радиоиммуноанализ. Методы анализа можно использовать для получения качественных и/или количественных результатов. Конкретные детали подходящих методов анализа как для качественного, так и количественного анализа образца описаны в стандартных ссылках, в качестве примера включая E. Harlow and D. Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988; F. Breitling & S. Diibel, *Recombinant Antibodies*, John Wiley & Sons, New York, 1999; H. Zola, *Monoclonal Antibodies: Preparation and Use of Monoclonal Antibodies and Engineered Antibody Derivatives, Basics: From Background to Bench*, BIOS Scientific Publishers, 2000; B.K.C. Lo, *Antibody Engineering: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, Humana Press, 2003; F.M. Ausubel et al., Eds., *Short Protocols in Molecular Biology, Current Protocols*, Wiley, 2002; S. Klussman, Ed., *The Aptamer Handbook: Functional Oligonucleotides and Their Applications*, Wiley, 2006; Ormerod, M.G., *Flow Cytometry: a practical approach*, Oxford University Press, 2000; Givan, A.L., *Flow Cytometry: first principles*, Wiley, New York, 2001; Gorczyca, W., *Flow Cytometry in Neoplastic Hematology: morphologic-immunophenotypic correlation*, Taylor & Francis, 2006; Crowther, J.R., *The ELISA Guidebook (Methods in Molecular Biology)*, Humana Press, 2000; Wild, D., *The Immunoassay Handbook*, 3<sup>rd</sup> Edition, Elsevier Science, 2005, и J. Sambrook and D.W. Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 3rd Ed., 2001.

Примеры протоколов для количественного определения и анализа образца на TRAIL с целью выявления эффекта фармацевтической композиции описаны в патенте США № 8673923 Вафика С. Эль-Дейри (Wafik S. El-deiry) и др., который включен в настоящее описание посредством ссылки во всей ее полноте.

В одном варианте реализации анализа TRAIL применяют для контроля субъекта. Так, например, тестовый образец берут у указанного субъекта до начала лечения фармацевтической композицией и один или более раз во время и/или после введения для оценки эффективности лечения. В еще одном примере тестовый образец берут у указанного субъекта в различные моменты времени для оценки хода или развития заболевания или лечения. В одном варианте реализации также можно анализировать рецепторы смерти циркулирующих опухолевых клеток, чтобы увидеть, увеличивает ли введение соединения (1) или его фармацевтически приемлемой соли количество или тип рецепторов смерти.

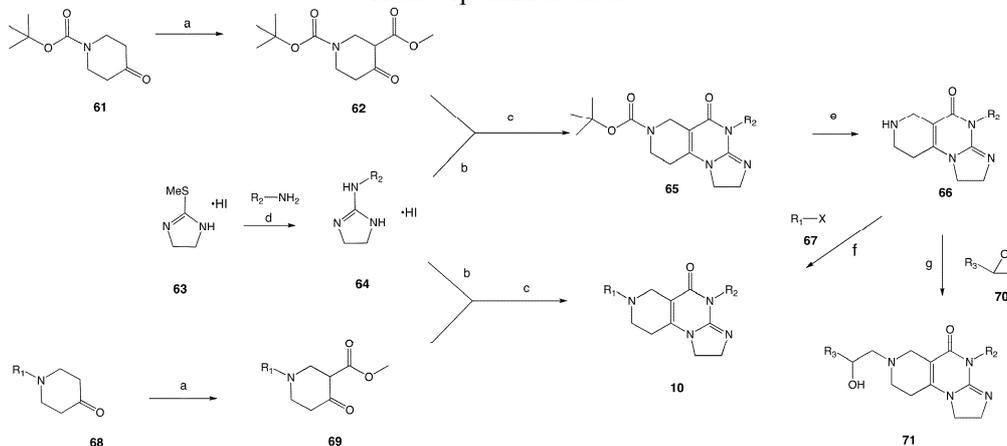
Виды рака, которые лечат с применением способов и композиций, описанных в настоящем документе, характеризуются аномальной клеточной пролиферацией, включая, но не ограничиваясь, пренеопластическую гиперпролиферацию, рак *in-situ*, новообразования и метастазы. Способы и композиции, описанные в настоящем документе, можно применять для предотвращения и также ослабления признаков и/или симптомов рака. Термины "лечить" и "лечение", используемые для обозначения лечения рака у субъекта, включают предотвращение, ингибирование или ослабления указанного рака у субъекта, например замедление прогрессирования указанного рака и/или уменьшение или ослабления признаков и/или симптомов указанного рака. Примеры раковых заболеваний, которые лечат с применением способов и композиций, описанных в настоящем документе, включают, но не ограничиваются ими, рак молочной железы, рака ЦНС, рак толстой кишки, рак яичников, рак предстательной железы, лейкоз, рак легких и лимфому.

В одном варианте реализации предложены соединения формулы (40)



где  $R_1$  представляет собой бензил; и каждый из  $R_{a1}$ ,  $R_{a4}$ ,  $R_{a5}$  представляет собой водород, и  $R_{a2}$  и  $R_{a3}$  выбирают из атомов фтора и хлора. На схеме 3 представлен синтез соединений формулы (10)

Иллюстративная схема 3



Способы: a - NaH, диметилкарбонат, толуол, 80°C, 4 ч; b - 1N NaOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> конвертировать в свободное основание, затем нагрев в диоксане при 70°C; c - 1-бутанол/нагрев с обр. хол. 3-6 ч (ловушка Дина-Старка) PPTS; d - диоксан 70°C; e - HCl в диоксане - 25°C - комн. темп. с получением HCl соли; f - Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, диизопропилэтиламин 80°C; g - NaOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> конвертировать в свободное основание, затем MeOH, нагрев с обр. хол. 3,5 ч.

Соединения формулы (10) синтезировали, начиная с замещенного пиперидона, который модифицировали при помощи взаимодействия с замещенным аминокимидазолином с получением основного соединения (10). Существует два пути: один, в котором заместитель  $R_1$  присутствует в пиперидоне (например, 68). В указанном способе соединение (68) ацилируют диметилкарбонатом с применением гидрида натрия в толуоле при 80°C с получением сложного эфира пиперидона (69). Коммерчески доступную HI соль метилтиоимидазолина (63) подвергали взаимодействию с амином в диоксане при 70°C с получением  $R_2$ -замещенного аминокимидазолина (64) в виде его HI соли. После прямого взаимодействия соединения (64) с пиперидоновым эфиром (69) в 1-бутаноле при нагреве с обратным холодильником с удалением воды через ловушку Дина-Старка в течение 3-6 ч получали трициклическое соединение (10). В варианте этой схемы защищенный N-BOC пиперидон (61) преобразовали теми же способами в BOC-защищенное соединение (65), которое обрабатывали HCl в диоксане для удаления BOC группы, а затем превращали в свободное основание (66) при помощи 1 N NaOH с экстракцией метиленхлоридом. После обработки (66) галогенидом (67) или эпоксидом (70) получали желаемое соединение (10).

Указанные неочищенные продукты можно очистить при помощи колоночной хроматографии, элюируя смесью метиленхлорид:метанол или при помощи ВЭЖХ с использованием ацетонитрил:TFA:H<sub>2</sub>O, с получением конечных продуктов в виде свободных оснований или в виде солей TFA. Обработка указанных свободных оснований с помощью HCl в диоксане или лиофилизация солей TFA приводит к получению продуктов (10) в виде солей HCl или TFA. Альтернативно, указанное свободное основание можно обработать другой неорганической или органической кислотой с получением других солей, обычно выбранных из тех, которые известны как фармацевтически приемлемые соли. Соли соединения (10) обычно представляют собой твердые вещества, и примеры кристаллизуют из этанола или других растворителей с получением кристаллов высокого качества. Трициклическая структура была окончательно подтверждена в случае соединения (1) рентгеновской кристаллической структурой и по ЯМР.

Соединение, описанное в настоящем документе, может применять с или без аминокильного линкера (например, соединение (33)) для идентификации молекул (например, белков), которые взаимодействуют с ними в клеточном контексте. Экспрессию указанных связывающих мишеней можно использовать для прогнозирования реакции на соединение (1) (ONC201) или его аналогов (т.е. в качестве биомаркеров). Кроме того, указанные соединения можно применять для скрининга структурно не родственных противораковых соединений с применением конкурентных анализов, известных в данной области техники, для идентификации лекарственных средств, способных превосходить взаимодействие с мишенью с более высокой аффинностью. Кроме того, указанные молекулы могут иметь лекарственные свойства, которые создают терапевтические улучшения или допускают дополнительное терапевтическое применение путем изменения свойств лекарственного средства, включая, но не ограничиваясь ими, фармакокинетику, активность, безопасность, биораспределение или метаболизм.

## Иллюстративные примеры соединения (10)

№	Номер ONC	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
1	ONC201	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (2-CH <sub>3</sub> ) -Ph
13		CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>3</sub>
14	ONC902	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (2-Cl) -Ph
15	ONC903	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (2-тиенил)
16	ONC904	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> F
17	ONC905	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> (4-N-бензил-пиперазин)
18	ONC906	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (2,4-ди-F-Ph)
19	ONC907	H	CH <sub>2</sub> - (2-CH <sub>3</sub> ) -Ph
20	ONC908	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> - (2-CH <sub>3</sub> ) -Ph
21	ONC909	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (2-CH <sub>3</sub> ) -Ph
22		CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> - (4-N-бензил-пиперидин)	CH <sub>2</sub> - (2-CH <sub>3</sub> ) -Ph
23		CH <sub>2</sub> CHONHPh	CH <sub>2</sub> - (2-CH <sub>3</sub> ) -Ph
24		(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CO-4F-Ph	CH <sub>2</sub> - (2-CH <sub>3</sub> ) -Ph
32	ONC910	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NHCOOC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> - (2-CH <sub>3</sub> ) -Ph
33	ONC911	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> - (2-CH <sub>3</sub> ) -Ph
41	ONC210	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (3,5-ди F-Ph)
51	ONC211	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (3,4-ди Cl-Ph)
52	ONC212	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (4-CF <sub>3</sub> -Ph)
53	ONC213	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (3,4-ди F-Ph)
54	ONC214	CD <sub>2</sub> C <sub>6</sub> D <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> - (2-CH <sub>3</sub> ) -Ph
43	ONC217	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> (2-F-Ph)
55	ONC218	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> (2-CH <sub>3</sub> , 4-F-Ph)
56	ONC219	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (2,4-ди Cl-Ph)
57	ONC220	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (4-OCN <sub>3</sub> ) -Ph
34	ONC226	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (3-пиридинил)
35	ONC222	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (3-изоксазолидинил)
36	ONC224	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> - (4-морфолинил)
37	ONC223	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (4-CH <sub>3</sub> -Ph)
38	ONC221	H	CH <sub>2</sub> - (4-CF <sub>3</sub> -Ph)
73	ONC227	CH <sub>2</sub> - (4-CF <sub>3</sub> -Ph)	CH <sub>2</sub> - (4-CF <sub>3</sub> -Ph)
72	ONC225	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> - (2-F, 4-CF <sub>3</sub> -Ph)
74	ONC228	CH <sub>2</sub> (4-F-Ph)	CH <sub>2</sub> - (4-CF <sub>3</sub> -Ph)
75	ONC229	CH <sub>2</sub> - (OCN <sub>3</sub> -Ph)	CH <sub>2</sub> - (4-CF <sub>3</sub> -Ph)
76	ONC230	(4-F-Ph) -4-оксобутил	CH <sub>2</sub> - (4-CF <sub>3</sub> -Ph)
77	ONC231	CH <sub>2</sub> -3-пиримидил	CH <sub>2</sub> - (4-CF <sub>3</sub> -Ph)
78	ONC232	CH <sub>2</sub> -4-метил-2-тиазолил	CH <sub>2</sub> - (4-CF <sub>3</sub> -Ph)
79	ONC233	CH <sub>2</sub> -2-пиразинил	CH <sub>2</sub> - (4-CF <sub>3</sub> -Ph)
81	ONC234	CH <sub>2</sub> - (3,4-ди Cl-Ph)	CH <sub>2</sub> - (4-CF <sub>3</sub> -Ph)
82	ONC235	CH <sub>2</sub> - (4-Cl-Ph)	CH <sub>2</sub> - (4-CF <sub>3</sub> -Ph)
83	ONC236	CH <sub>2</sub> - (-3-тиенил)	CH <sub>2</sub> - (4-CF <sub>3</sub> -Ph)
84	ONC237	CH <sub>2</sub> CH(OH)Ph	CH <sub>2</sub> - (4-CF <sub>3</sub> -Ph)

Как описано в примере 12 ниже, соединение (1) с аминокальным линкером (т.е. соед. (33)) применяли для идентификации белков, которые взаимодействуют с соединением (1). Было обнаружено, что соединение (1) взаимодействует с белками, задействованными в метилировании мРНК N<sup>6</sup>-метиладенозина (m<sup>6</sup>A). Белки, которые связаны с эпигенетической модификацией m<sup>6</sup>A мРНК, включают приведенные в табл. 1. Указанные белки включают метилирующие мРНК (РНК-записыватели), такие как METTL3, METTL14, WTAP и KIAA1429; деметилирующие m<sup>6</sup>A мРНК (РНК-ластик), такие как FTO и ALKBH5; и также те, которые специфически распознают m<sup>6</sup>A РНК (РНК-считыватели), такие как YTHDF3, YTHDF2, YTHDF1, YTHDC1 и YTHDC2.

Таблица 1  
m<sup>6</sup>A мРНК метилирующие белки

<b>РНК-считыватели</b>	
YTHDF3	
YTHDF2	
YTHDF1	
YTHDC1	
YTHDC2	
<b>РНК-записыватели</b>	
METTL3	
METTL14	
WTAP	
KIAA1429	
<b>РНК-ластики</b>	
FTO	
ALKBH5	

### III. Оценка чувствительности и эффективности схем лечения.

Измерение экспрессии, посттрансляционных модификаций или уровня активности eIF2-альфа, ATF4, CHOP, DR5 или мутаций в eIF2-альфа, ATF4, CHOP, DR5, или расщепленного или общего цитокератина 18 можно применять для прогнозирования реакции или чувствительности к способу лечения, описанному в настоящем документе, и для идентификации того, будут ли субъекты реагировать на описанный в настоящем документе способ лечения, такой как обработка соединением (1), его фармацевтически приемлемой солью или его аналогом. Кроме того, измерение экспрессии, посттрансляционных модификаций или уровня активности eIF2-альфа, ATF4, CHOP, DR5 или мутаций в eIF2-альфа, ATF4, CHOP, DR5 или расщепленного или общего цитокератина 18 можно применять для оценки эффективности или контроля способа лечения, описанного в настоящем документе. Кроме того, измерение экспрессии, посттрансляционных модификаций или уровня активности eIF2-альфа, ATF4, CHOP, DR5 или мутаций в eIF2-альфа, ATF4, CHOP, DR5 или расщепленного или общего цитокератина 18 можно применять для скрининга *in vivo*, *in vitro* или *in silico* для структурно не родственных между собой противораковых соединений. Например, конкурентный и другие анализы, известные в данной области техники, можно применять для идентификации лекарственных средств, способных вытеснять взаимодействие с мишенью с более высокой аффинностью, для сравнения изменений указанных уровней с соответствующими изменениями, полученными для соединения (1) или его аналогов. Анализы также можно проводить на живых клетках млекопитающих, которые более близко аппроксимируют влияние определенного уровня лекарственного средства в сыворотке крови в организме, или на микросомальных экстрактах, полученных из культивируемых клеточных линий.

Уровни для предварительно определенного стандарта могут быть, например, средними или медианными уровнями, измеренными в образцах у субъектов. Уровни для предварительно определенного стандарта можно измерять в тех же или, по существу, аналогичных экспериментальных условиях, как при измерении образца у указанного субъекта. Уровни для предварительно определенного стандарта можно получать у субъектов, которые реагируют на лечение соединением по изобретению. В одном варианте реализации настоящего изобретения предварительно определенный стандарт получают у субъектов, которые реагируют на лечение указанным соединением, и, если уровни в образце от субъекта аналогичны уровням в стандарте, тогда субъекта можно отнести к тем, кто, вероятно, будет реагировать на лечение. Уровни для предварительно определенного стандарта можно получать у субъектов, которые не реагируют на лечение указанным соединением. В одном варианте реализации настоящего изобретения предварительно определенный стандарт получают у субъектов, которые не реагируют на лечение указанным соединением, и, если уровни в образце от субъекта отличаются, (например, в сторону повышения или понижения) от предварительно определенных в стандарте, тогда субъекта можно отнести к тем, кто, вероятно, будет реагировать на лечение. Уровни для предварительно определенного стандарта можно получать от нормальных здоровых субъектов.

Иммуноанализы можно использовать для анализа уровней белка или метилирования в образце, включая, но не ограничиваясь ими, ферментсвязанный иммуносорбентный анализ (ELISA), ферментсвязанный иммунофилтративный анализ (ELIFA), проточную цитометрию, иммуноблот, иммунопреципитацию, иммуногистохимию, иммуноцитохимию, люминесцентный иммуноанализ (ЛИА), флуоресцентный иммуноанализ (ФИА) и радиоиммуноанализ. Уровень метилирования m<sup>6</sup>A мРНК в образце можно получить с помощью иммунопреципитации метилированной РНК (Me-RIP) или другими количественными биохимическими анализами, известными в данной области техники.

Мутации нуклеиновой кислоты можно определить любым из ряда известных способов. Например, сначала можно получить биологический образец от индивидуума. Такие биологические образцы включают, но не ограничиваются ими, физическую жидкость (например, мочу, слюну, плазму или сыворотку) или образец ткани (например, образец слюнной ткани или клетка буккального эпителия). Затем указанный биологический образец можно секвенировать или сканировать с использованием известных методов. Например, массивы ДНК можно применять для анализа по меньшей мере части геномной последовательности субъекта. Кроме того, можно применять полные или частичные данные по последовательности генома. Указанные последовательности можно определить с использованием стандартных методов секвенирования, включая обрыв цепи (дидезоксинуклеотид Сэнгера), секвенирование красителя-терминатора и секвенирование SOLID™ (Applied Biosystems). Целые геномные последовательности можно разрезать при рестрикции ферментами или разрезать (механически) на более короткие фрагменты для секвенирования. Последовательности ДНК также можно амплифицировать с использованием известных методов, таких как ПЦР и методы клонирования на основе векторов (например, *Escherichia coli*). В одном варианте реализации настоящего изобретения по меньшей мере часть генетического материала субъекта (например, ДНК, РНК, мРНК, кДНК, другие нуклеотидные основания или их производные) сканируют или секвенируют, применяя, например, обычные секвенаторы ДНК или технологии на основе микропроцессоров, для определения наличия или отсутствия мутаций или количества вариаций копий.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, описаны способы идентификации и лечения субъекта, имеющего состояние, который, вероятно, будет реагировать на режим лечения, описанный в настоящем документе. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ

содержит (i) определение вероятности ответа у субъекта, имеющего состояние, на схему лечения, описанную в настоящем документе; и (ii) лечение с помощью указанной схемы лечения субъекта, для которого было определено, что он, вероятно, будет реагировать на указанную схему лечения. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный субъект имеет или может иметь рак. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная схема лечения включает введение эффективного количества соединения по изобретению.

Уровни для предварительно определенного стандарта могут быть, например, средними или медианными уровнями, измеренными в образцах у субъектов. Уровни для указанного предварительно определенного стандарта могут быть измерены в тех же или, по существу, аналогичных экспериментальных условиях, как при измерении образца у субъекта. Уровни для предварительно определенного стандарта могут быть получены у субъектов, которые реагируют на лечение соединением по изобретению. В одном варианте реализации настоящего изобретения предварительно определенный стандарт получают у субъектов, которые реагируют на лечение указанным соединением, и, если уровни в образце от субъекта аналогичны уровням в стандарте, тогда субъекта можно отнести к тем, кто, вероятно, будет реагировать на лечение. Уровни для предварительно определенного стандарта могут быть получены у субъектов, которые не реагируют на лечение указанным соединением. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный предварительно определенный стандарт получают у субъектов, которые не реагируют на лечение указанным соединением, и, если уровни в образце от субъекта отличаются, (например, в сторону повышения или понижения) от предварительно определенных для стандарта, тогда указанного субъекта можно отнести к тем, кто, вероятно, будет реагировать на лечение. Уровни для предварительно определенного стандарта могут быть получены от нормальных здоровых субъектов. Иммуноанализы можно использовать для анализа уровней белка в образце.

В одном аспекте, представленном в настоящем документе, представлены способы лечения и оценки эффективности лечения у субъекта, имеющего указанное состояние. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанный способ включает (i) обработку субъекта согласно способу лечения, описанному в настоящем документе, (ii) оценку эффективности лечения, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанный субъект имеет или может иметь рак. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанная схема лечения включает введение эффективного количества соединения по изобретению.

#### IV. Композиции.

В одном аспекте настоящего изобретения предложены фармацевтические композиции, содержащие соединения по изобретению и их фармацевтически приемлемые соли. В одном варианте реализации указанная терапевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемую соль указанного соединения. В одном варианте реализации указанная соль представляет собой фармацевтически приемлемую моносоль указанного соединения. В одном варианте реализации указанная соль представляет собой фармацевтически приемлемую моносоль указанного соединения. В одном варианте реализации указанная соль представляет собой фармацевтически приемлемую моносоль или мультисоль (например, дисоль или трисоль), выбранную из группы, состоящей из гидрохлорида, гидробромида, бисульфата, сульфатов, фосфатов, фумаратов, сукцинатов, оксалатов и лактатов, бисульфатов, гидроксила, тартрата, нитрата, цитрата, битартрата, карбоната, малата, малеата, фумаратсульфоната, метилсульфоната, формиата, ацетата и карбоксилата. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная соль представляет собой фармацевтически приемлемую соль, выбранную из группы, состоящей из п-толуолсульфоната, бензолсульфоната, цитрата, метансульфоната, оксалата, сукцината, тартрата, фумарата и малеата. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная соль представляет собой фармацевтически приемлемую соль, выбранную из группы, состоящей из аммония, натрия, калия, кальция, магния, цинка, лития, и/или с противоионами, такими как противоионы метиламино, диметиламино, диэтиламино и триэтиламино. В одном варианте реализации указанная соль представляет собой дигидрохлоридную или дигидробромидную соль указанного соединения.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция включает дисоль (например, дигидрохлоридную соль) соединения. Соли (например, дисоли или трисоли) соединения можно получить из соединения, которое может быть синтезировано, как описано в настоящем документе, или с применением стандартных способов химического синтеза, известных специалисту в данной области техники.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель. Подходящие фармацевтически приемлемые носители включают, но не ограничиваются ими, те, которые перечислены в Handbook of Pharmaceutical Excipients, 7<sup>th</sup> edition, edited by Raymond C. Rowe et al., American Pharmaceutical Association, Washington, USA and Pharmaceutical Press, London и более ранних изданиях. Иллюстративные фармацевтически приемлемые носители, способы получения фармацевтических композиций и различных лекарственных форм, а также способы введения хорошо известны в данной области техники, например, как описано в Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, edited by Larry L. Augsburger and Stephen W. Hoag., London: Informa Healthcare, 2008; и в L.V. Allen, Jr. et al., Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms

and Drug Delivery Systems, 8th Ed., Philadelphia, Pa.: Lippincott, Williams & Wilkins, 2004; A.R. Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins, 21st ed., 2005, особенно в главе 89, и J.G. Hardman et al., Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill Professional, 10th ed., 2001.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция составлена для глазного введения. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция составлена для местного введения. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанные фармацевтические композиции составлены в виде капель, мазей или жидкостей. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит общепринятые фармацевтические носители, например водную, порошкообразную или масляную основу, загустители и тому подобное.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция представляет собой состав для внутривенного введения. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная внутривенная композиция содержит соединение формулы (10) или его фармацевтически приемлемую соль, растворенную в растворителе. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный растворитель содержит воду. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная внутривенная композиция содержит указанное соединение или его соль в концентрации примерно 0,05, примерно 0,25, примерно 0,5, примерно 2,5, примерно 5, примерно 25 или примерно 50 мг/мл. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит указанное соединение или его соль в концентрации от примерно 0,05, 0,5 или 5 мг/мл до примерно 1, 10 или 100 мг/мл. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит от примерно 0,005, 0,05 или от 0,5% до примерно 0,1, 1 или 10% указанного соединения или его соли. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит примерно 0,05, 0,5 или 5% указанного соединения или его соли. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит более высокую или более низкую концентрацию указанного соединения или его соли.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения имеет рН примерно 3. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения доводят до рН 3 при помощи фосфатного буфера. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит декстрозу или натрия хлорид. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит указанное соединение или его соль в концентрации примерно 5 мг/мл и рН 3 и образует стабильный раствор. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит указанное соединение или его соль в концентрации примерно 5 мг/мл и рН <5 и образует стабильный раствор. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит указанное соединение или его соль в концентрации примерно 5 мг/мл и рН <5 и образует стабильный раствор. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит смесь моно- и дигидрохлоридной соли указанного соединения. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит указанное соединение или его соль в виде 1%-го раствора в концентрации примерно 10 мг/мл. Например, указанный состав для внутривенного введения представляет собой раствор, имеющий рН примерно 3,3. В одном варианте реализации настоящего изобретения рН составляет менее 4,0.

В одном варианте реализации указанная фармацевтическая композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель. В одном варианте реализации указанный фармацевтически приемлемый носитель содержит масло. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный фармацевтически приемлемый носитель содержит стерильную воду. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный фармацевтически приемлемый носитель содержит водный носитель. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит декстрозу и/или натрия хлорид.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит соединение (1) или его аналог или его дигидрохлоридную соль, растворенные в воде в концентрации 25 мг/мл. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения доводят до рН 3 при помощи фосфатного буфера. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит декстрозу или натрия хлорид. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит более высокую или более низкую концентрацию дигидрохлоридной соли соединения по изобретению. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит соединение по изобретению или его дигидрохлоридную соль в концентрации примерно 5 мг/мл. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит соединение по изобретению или его дигидрохлоридную соль в концентрации примерно 5 мг/мл, имеет рН 3 и образует стабильный раствор. В одном варианте реализации настоящего

изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит соединение по изобретению или его дигидрохлоридную соль в концентрации примерно 5 мг/мл, имеет рН <5 и образует стабильный раствор. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит соединение по изобретению или его дигидрохлоридную соль и один или более антиоксидантов. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит смесь моно- и дигидрохлоридной соли соединения по изобретению. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит соединение по изобретению или его дигидрохлоридную соль в виде 1%-го раствора в концентрации примерно 10 мг/мл. Например, указанный состав для внутривенного введения представляет собой раствор, имеющий рН примерно 3,3. В одном варианте реализации настоящего изобретения рН составляет менее 4,0.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит от примерно 0,5 до примерно 10% (или от примерно 5 до примерно 100 мг/мл) соединения по изобретению или его дисоли. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный состав для внутривенного введения содержит примерно 5% (или примерно 50 мг/мл) соединения по изобретению или его дисоли. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанную скорость внутривенного введения можно замедлять для уменьшения побочных эффектов соединения по изобретению или его дисоли.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит примерно 0,1-99% соли соединения по изобретению и фармацевтически приемлемый носитель, например масло или стерильную воду или другие водные носители. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит моно- или дисоль соединения по изобретению в диапазоне от примерно 5 до примерно 50% для пероральных лекарственных форм.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит антиоксидант. Подходящие антиоксиданты включают производные аскорбиновой кислоты, такие как аскорбиновая кислота, эриторбиновая кислота, аскорбат натрия, тиольные производные, такие как тиоглицерин, цистеин, ацетилцистеин, цистин, дитиозеритритол, дитиотреитол, глутатион, токоферолы, бутилированный гидроксанизол (ВНА), бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), соли сернистой кислоты, такие как сульфат натрия, бисульфит натрия, ацетон бисульфит натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия, формальдегидсульфоксилат натрия и тиосульфат натрия, нордигидрогвайаретовую кислоту. Следует отметить, что антиоксиданты, применяемые для водных составов, обычно включают сульфит натрия, метабисульфит натрия, формальдегидсульфоксилат натрия и аскорбиновую кислоту и их комбинации, в то время как антиоксиданты, применяемые в растворах на масляной основе и органических растворителях, включают бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), бутилированный гидроксанизол (ВНА) и пропилгаллат и их комбинации. В других вариантах реализации настоящего изобретения указанный антиоксидант может представлять собой один или более из флавоноида, изофлавона, монотиоглицерина, L-цистеина, тиогликолевой кислоты,  $\alpha$ -токоферола, аскорбиновой кислоты б-пальмитата, дигидролипоевой кислоты, бутилированного гидрокситолуола (ВНТ), бутилированного гидроксанизола (ВНА), витамина Е, пропилгаллата,  $\beta$ -каротина, аскорбиновой кислоты. Антиоксиданты обычно применяют в количестве примерно от 0,1 до 1,0 мас.%, наиболее часто примерно 0,2 мас.%.

#### V. Доза.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль в дозе от 40, 50, 60 или 100 до примерно 2000 мг; от примерно 4, 5, 6 или 10 до примерно 200 мг или от около 0,4, 0,5, 0,6 или от 1 до примерно 20 мг, при этом масса может быть рассчитана по указанному соединению в форме свободного основания. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит соединение по изобретению или его аналог или его фармацевтически приемлемую соль в дозе в диапазоне от примерно 50 до примерно 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900 или 2000 мг; от примерно 5 до примерно 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 и 200 мг или от примерно 0,5 до примерно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20 мг. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль в дозе в диапазоне от примерно 40 до примерно 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900 или 2000 мг; от примерно 4 до примерно 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 и 200 мг или от примерно 0,4 до примерно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20 мг. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль в дозе в диапазоне от примерно 60 до примерно 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900 или 2000 мг; от примерно 6 до примерно 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 и 200 мг или от примерно 0,6 до примерно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 мг. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая компози-

ция содержит соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль в дозе в диапазоне от примерно 100 до примерно 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900 или 2000 мг; от примерно 10 до примерно 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 и 200 мг или от примерно 1 до примерно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 мг. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль в дозе в диапазоне от примерно 200 до примерно 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900 или 2000 мг; от примерно 20 до примерно 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 мг или от примерно 2 до примерно 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 19 или 20 мг в расчете на соединение в форме его свободного основания. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль в дозе в диапазоне от примерно 400 до примерно 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900 или 2000 мг; от примерно 40 до примерно 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 мг или от примерно 4 до примерно 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 19 или 20 мг в расчете на соединение в форме его свободного основания. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль в дозе в диапазоне от примерно 50 до примерно 60, 70, 80, 90 или 100 мг; от примерно 60 до примерно 70, 80, 90 или 100 мг; от примерно 70 до примерно 80, 90 или 100 мг, от примерно 80 до примерно 90 или 100 мг; от примерно 90 до примерно 100 мг; от примерно 5 до примерно 6, 7, 8, 9 или 10 мг; от примерно 6 до примерно 7, 8, 9 или 10 мг; от примерно 7 до примерно 8, 9 или 10 мг, от примерно 8 до примерно 9 или 10 мг; от примерно 9 до примерно 10 мг; от примерно 0,5 до примерно 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 или 1 мг; от примерно 0,6 до примерно 0,7, 0,8, 0,9 или 1 мг; от примерно 0,7 до примерно 0,8, 0,9 или 1 мг, от примерно 0,8 до примерно 0,9 или 1 мг или от примерно 0,9 до примерно 1 мг.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль в дозе от примерно 1 до примерно 40; 0,1 мг/кг до примерно 4 мг/кг или от 0,01 до около 0,40 мг/кг. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль в дозе в диапазоне от примерно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или от 9 мг/кг до примерно 10, 20, 30 или 40 мг/кг; от примерно 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 или от 19 мг/кг до примерно 20, 30 или 40 мг/кг; от примерно 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 или от 29 мг/кг до примерно 30 или 40 мг/кг; от примерно 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38 или 39 до примерно 40 мг/кг; от примерно 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8 или 0,9 до примерно 1, 2, 3 или 4 мг/кг; от примерно 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8 или 1,9 до примерно 2, 3 или 4 мг/кг; от примерно 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8 или 2,9 до примерно 3 или 4 мг/кг или от примерно 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8 или 3,9 до примерно 4 мг/кг; от примерно 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09 до примерно 0,10, 0,20, 0,30 или 0,40 мг/кг; от примерно 0,10, 0,11, 0,12, 0,13, 0,14, 0,15, 0,16, 0,17, 0,18 или от 0,19 до примерно 0,20, 0,30 или 0,40 мг/кг; от примерно 0,20, 0,21, 0,22, 0,23, 0,24, 0,25, 0,26, 0,27, 0,28 или от 0,29 до примерно 0,30 или 0,40 мг/кг; или от примерно 0,30, 0,31, 0,32, 0,33, 0,34, 0,35, 0,36, 0,37, 0,38 или 0,39 до примерно 0,40 мг/кг.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль в дозе в диапазоне от примерно 37,5 до примерно 1500 мг/м<sup>2</sup>; от примерно 3,75 до примерно 150 мг/м<sup>2</sup> или от примерно 0,4 до примерно 15 мг/м<sup>2</sup>. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция содержит соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль в дозе в диапазоне от 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 205, 210, 215, 220, 225, 230, 235, 240, 245, 250, 255, 260, 265, 270, 275, 280, 285, 290, 295, 300, 305, 310, 315, 320, 325, 330, 335, 340, 345, 350, 355, 360, 365, 370, 375, 380, 385, 390, 395, 400, 405, 415, 420, 425, 430, 435, 440, 445, 450, 455, 460, 465, 470, 475, 480, 485, 490, 495, 500, 505, 510, 515, 520, 525, 530, 535, 540, 545, 550, 555, 560, 565, 570, 575, 580, 585, 590, 595, 600, 605, 610, 615, 620, 625, 630, 635, 640, 645, 650, 655, 660, 665, 670, 675, 680, 685, 690, 695, 700, 705, 710, 715, 720, 725, 730, 735, 740, 745, 750, 755, 760, 765, 770, 775, 780, 785, 790, 795, 800, 805, 810, 815, 820, 825, 830, 835, 840, 845, 850, 855, 860, 865, 870, 875, 880, 885, 890, 895, 900, 905, 910, 915, 920, 925, 930, 935, 940, 945, 950, 955, 960, 965, 970, 975, 980, 985, 990, 995, 1000, 1005, 1010, 1015, 1020, 1025, 1030, 1035, 1040, 1045, 1050, 1055, 1060, 1065, 1070, 1075, 1080, 1085, 1090, 1095, 1100, 1105, 1110, 1115, 1120, 1125, 1130, 1135, 1140, 1145, 1150, 1155, 1160, 1165, 1170, 1175, 1180, 1185, 1190, 1195, 1200, 1205, 1210, 1215, 1220, 1225, 1230, 1235, 1240, 1245, 1250, 1255, 1260, 1265, 1270, 1275, 1280, 1285, 1290, 1295, 1300, 1305, 1310, 1315, 1320, 1325, 1330, 1335, 1340, 1345, 1350, 1355, 1360, 1365, 1370, 1375, 1380, 1385, 1390, 1395, 1400, 1405, 1410, 1415, 1420, 1425, 1430, 1435, 1440, 1445, 1450, 1455, 1460, 1465, 1470, 1475, 1480, 1485, 1490, 1495 до примерно 1500 мг/м<sup>2</sup>; от примерно 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52,

53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148 или 149 до примерно  $150 \text{ мг/м}^2$  или примерно от 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5, 11, 11,1, 11,5, 12, 12,5, 13, 13,5, 14 или 14,5 до примерно  $15 \text{ мг/м}^2$ .

#### VI. Лекарственные формы.

Подходящие фармацевтические композиции для применения в способах, описанных в настоящем документе, могут быть приготовлены в виде лекарственной формы, которую можно вводить пациенту. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция находится в виде пероральной дозированной лекарственной формы или парентеральной дозированной лекарственной формы. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция находится в виде пероральной дозированной лекарственной формы. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанная пероральная дозированная лекарственная форма разделена на несколько меньших доз, которые вводят субъекту в течение заранее заданного периода времени с целью снижения токсичности вводимого терапевтического агента. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанную пероральную дозированную лекарственную форму вводят в виде таблетки или капсулы, содержащей состав с контролируемым высвобождением, которая может включать в себя множество частиц, гранулы, пеллеты, мини-таблетки или таблетки. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция находится в виде парентеральной дозированной лекарственной формы. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция находится в виде парентеральной дозированной лекарственной формы, выбранной из группы, состоящей из внутривенной (в/в), подкожной (п/к) и внутримышечной (в/м), ректальной (р) и трансдермальной дозированной лекарственной формы. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция находится в виде дозированной лекарственной формы, выбранной из группы, состоящей из стерильных растворов, суспензий, суппозиториев, таблеток и капсул. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная композиция находится в виде пероральной дозированной лекарственной формы, выбранной из группы, состоящей из таблетки, каплеты, капсулы, пастилки, сиропа, жидкости, суспензии и эликсира. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная композиция находится в виде пероральной дозированной лекарственной формы, выбранной из группы, состоящей из таблеток, твердых капсул, мягких желатиновых капсул, шариков, гранул, агрегатов, порошков, гелей, твердых и полутвердых форм.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения подходящие формы фармацевтических композиций, предназначенных для применения в способах, описанных в настоящем документе, включают в себя дерматологические композиции, адаптированные для местного введения через кожу. Например, указанные дерматологические композиции содержат косметически или фармацевтически приемлемую среду. Указанные дерматологические композиции для местного введения могут включать мази, лосьоны, кремы, гели, капли, суппозитории, спреи, жидкости и порошки. В некоторых вариантах реализации обычные фармацевтические носители, водные, порошкообразные или масляные основания, загустители, усилители проницаемости кожи и тому подобное могут быть необходимы или желательны и поэтому их можно применять. Примеры подходящих усилителей включают, но не ограничиваются ими, простые эфиры, такие как моноэтиловый эфир диэтиленгликоля (коммерчески доступный как Transcutol®) и монометилвый эфир диэтиленгликоля; поверхностно-активные вещества, такие как лаурат натрия, лаурилсульфат натрия, бромид цетилтриметиламмония, бензалкония хлорид, Полоксамер (231, 182, 184), Твин (20, 40, 60, 80) и лецитин (патент США № 4783450); спирты, такие как этанол, пропанол, октанол, бензиловый спирт и тому подобные; полиэтиленгликоль и его сложные эфиры, такие как полиэтиленгликоль монолаурат; амиды и другие азотсодержащие соединения, такие как мочевины, диметил-ацетамид (ДМА), диметилформамид (ДМФА), 2-пирролидон, 1-метил-2-пирролидон, этаноламин, диэтианоламин и триэтианоламин; терпены; алканоны; и органические кислоты, в частности лимонную кислоту и янтарную кислоту. Также можно применять Azone® и сульфоксиды, такие как ДМСО и CtOMSO, но они менее предпочтительны.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанная фармацевтическая композиция находится в виде лекарственной формы, выбранной из группы, состоящей из форм с замедленным высвобождением, форм с контролируемым высвобождением, форм с отсроченным высвобождением и форм с ответным высвобождением.

#### VII. Способы применения.

Композиции и способы, описанные в настоящем документе, находят применение при лечении многих болезненных состояний, включая рак (например, колоректальный рак, рак мозга и глиобластому). В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения таких заболеваний, как меланома глаза, десмопластическая мелкокруглоклеточная опухоль, хондросаркома, лептоменингеальная болезнь, диффузная крупноклеточная В-

клеточная лимфома, острый лимфобластный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, аденокортикальная карцинома, СПИД-ассоциированные раки, СПИД-ассоциированная лимфома, рак анального канала и рак прямой кишки, рак аппендикса, астроцитомы и атипичная тератоидная/рабдоидная опухоль. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения таких заболеваний, как базальноклеточная карцинома, синдром базальноклеточного невуса, синдром Горлина, рак желчных протоков, рак мочевого пузыря, рак костей, остеосаркома и злокачественная фиброзная гистиоцитома, опухоль головного мозга, рак молочной железы, опухоли бронхов, лимфома Беркитта и опухоли спинного мозга. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения таких заболеваний, как карциноидная опухоль, карцинома неизвестной первичной локализации, атипичная тератоидная/рабдоидная опухоль центральной нервной системы, лептоменингеальная болезнь, эмбриональные опухоли центральной нервной системы, лимфома центральной нервной системы, рак шейки матки, хордома, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз, хронические миелопролиферативные заболевания, рак толстой кишки, колоректальный рак, краниофарингиома и Т-клеточная лимфома кожи (включая, но не ограничиваясь, синдром Сезари и фунгоидный микоз (ФМ)). В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения таких заболеваний, как эмбриональные опухоли центральной нервной системы, рак эндометрия, эпендимобластома, эпендимома, рак пищевода, семейство сарком Юинга, экстракраниальные герминогенные опухоли, внегонадные герминогенные опухоли, рак внепеченочных желчных протоков и рак глаз. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения таких заболеваний, как рак желчного пузыря, рак желудка, карциноидная опухоль желудочно-кишечного тракта, гастроинтестинальная стромальная опухоль (GIST), герминогенная опухоль, гестационная трофобластическая опухоль и глиома. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из волосатоклеточного лейкоза, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярного рака (печени), гистиоцитоза, лимфомы Ходжкина и гипофарингеального рака. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения таких заболеваний, как саркома Капоши и рак почки (почечно-клеточный рак). В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения таких заболеваний, как лингергансоподобный гистиоцитоз, рак гортани, рак губ и полости рта, рак печени, рак легких, неходжкинская лимфома и первичная лимфома центральной нервной системы. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения таких заболеваний, как макроглобулинемия Вальденстрема (лимфоплазмочитарная лимфома), злокачественная фиброзная гистиоцитома костей и остеосаркома, медуллобластома, медуллоэпителиома, меланома, карцинома из клеток Меркеля, мезотелиома, метастатический плоскоклеточный рак шеи с неизвестной первичной локализацией, синдром множественной эндокринной неоплазии, рак ротовой полости, множественная миелома/плазмноклеточное новообразование, фунгоидный микоз, миелодиспластические синдромы, миелодиспластические/миелопролиферативные новообразования, множественная миелома и миело-пролиферативные заболевания. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения рака. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения таких заболеваний, как рак носовой полости и околоносовых пазух, рак носоглотки и нейробластома. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения таких заболеваний, как рак полости рта, рак губ и полости рта, рак ротоглотки, остеосаркома и злокачественная фиброзная гистиоцитома костей, рак яичников, герминогенная опухоль яичников, эпителиальный рак яичников и опухоль яичников с низким злокачественным потенциалом. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения таких заболеваний, как рак поджелудочной железы, папилломатоз, рак околоносовых пазух и носовой полости, рак паразитовидной железы, рак полового члена, рака глотки, опухоли паренхимы шишковидной железы промежуточной дифференцировки, пинеобластома и супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли, опухоли гипофиза, плевропальмональная бластома, беременность и рак молочной железы, первичная лимфома центральной нервной системы и рак предстательной железы. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из рака прямой кишки, почечно-клеточного рака (почки), рака почечной лоханки и мочеточника, карциномы дыхательных путей с вовлечением NUT-гена на хромосоме 15, ретинобластомы и рабдомиосаркомы. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения рака предстательной железы высокой степени. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения рака предстательной железы средней степени. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем докумен-

те, применяют для лечения рака предстательной железы низкой степени. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения кастрационно-резистентного рака предстательной железы.

Авторы изобретения обнаружили в моделях *in vitro*, на моделях животных и в клинических испытаниях у человека, что ONC201 (соединение (1)) обладает широкой противораковой активностью, низкой токсичностью, включая незначительные, если таковые имеются, побочные действия, низкую генотоксичность и высокую биодоступность, включая пероральную биодоступность. Благодаря указанным особенностям ONC 201 и различные аналоги особенно хорошо подходят для пациентов детского возраста. Благодаря этим особенностям ONC 201 и различные аналоги особенно хорошо подходят для продолжительной терапии, для пациентов с высоким риском, а также для обеспечения длительных ответов или предотвращения рецидива стабильного заболевания или для предотвращения возврата заболевания.

В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения рака у детей (солидных опухолей у детей, сарком у детей, сарком Юинга у детей, глиом у детей, рака центральной нервной системы у детей, лейкемии у детей и лимфомы у детей).

В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения пролиферативного расстройства кожи, такого как псориаз. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из рака слюнных желез, саркомы, синдрома Сезари, рака кожи, рака глаз, карциномы кожи, рака тонкого кишечника, саркомы мягких тканей, плоскоклеточной карциномы, плоскоклеточного рака шеи с неизвестной первичной локализацией и супратенториальных примитивных нейроэктодермальных опухолей. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из Т-клеточной лимфомы, рака яичек, рака гортани, тимомы и карциномы тимуса, рака щитовидной железы, переходно-клеточного рака почечной лоханки и мочеточника и гестационной трофобластической опухоли. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из карциномы неизвестной первичной локализации, рака неизвестной первичной локализации, необычных раков детского возраста, переходно-клеточного рака почечной лоханки и мочеточника, рака уретры и саркомы матки. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из вагинального рака и рака вульвы. В одном варианте реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из опухоли Вильмса и женских раков.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют в качестве терапии первой линии (иногда называемой первичной терапией). В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют в качестве терапии второй линии. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют в качестве терапии третьей линии. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют в качестве "терапии спасения". Термин "терапия спасения", используемый в настоящем документе, обозначает терапевтический агент, который можно принимать в любом режиме после того, как потерпела неудачу первоначальная схема лечения субъекта или после того, как состояние субъекта не ответило на первоначальное лечение. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют в качестве резервной терапии. В одном варианте реализации резервной терапии указанные композиции применяют в качестве резервного агента для нейтрализации действия первоначального лечения. В одном варианте реализации резервной терапии указанные композиции применяют в качестве резервного агента, который вводят субъекту, который уже имеет резистентность к стандартному или первоначальному лечению. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют в качестве неоадьювантной терапии. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная неоадьювантная терапия включает введение субъекту одного или более терапевтических агентов, описанных в настоящем документе, перед основной или первой линией терапии. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная неоадьювантная терапия уменьшает размер или степень рака, подлежащего лечению, перед введением основной или первой линии терапии субъекту, подвергаемого лечению. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, применяют в качестве адьювантной терапии. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанная адьювантная терапия включает введение субъекту одного или более терапевтических агентов, описанных в настоящем документе, где указанные один или более терапевтических агентов модифицируют действие других терапевтических агентов, которые уже ввели субъекту или одновременно вводят субъекту или последовательно вводят субъекту.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, демонстрируют пониженную вероятность лекарственных взаимодействий. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения соединение по изобретению удаляют из организма пациента, прежде чем он сможет взаимодействовать с другим фармацевтически активным веществом.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, демонстрируют уровни токсичности, которые облегчают комбинации с другими фармацевтическими агентами.

Способы и композиции, описанные в настоящем документе, не ограничиваются конкретными видами животных. В одном варианте реализации субъект, которого лечат в соответствии со способами и с применением композиций, описанных в настоящем документе, может представлять собой млекопитающее или не представлять собой млекопитающее. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный субъект-млекопитающее включает любое млекопитающее, но не ограничивается ими: человек; не являющийся человеком приматов; грызуна, такого как мышь, крыса или морская свинка; одомашненное животное, такое как кошка или собака; лошадь, корова, свинья, овца, коза или кролик. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный субъект, не являющийся млекопитающим, включает, но не ограничивается ими: птицу, такую как утку, гусь, курицу или индейку. В некоторых вариантах реализации настоящего описания указанный субъект представляет собой человека. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанные субъекты могут быть любого пола и любого возраста. Композиции и способы также можно применять для предотвращения рака. Композиции и способы также можно применять для стимуляции иммунной системы.

Способы и композиции, описанные в настоящем документе, не ограничены конкретным возрастом субъекта. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный субъект, которого лечат в соответствии со способами и с применением композиций, описанных в настоящем документе, может быть в возрасте старше 50 лет, в возрасте старше 55 лет, в возрасте старше 60 лет или в возрасте старше 65 лет. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный субъект, которого лечат в соответствии со способами и с применением композиций, описанных в настоящем документе, может быть в возрасте моложе 50 лет, в возрасте моложе 55 лет, в возрасте моложе 60 лет или в возрасте моложе 65 лет.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный субъект, которого лечат в соответствии со способами и с применением композиций, описанных в настоящем документе, может являться пациентом детского возраста. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный пациент детского возраста младше 18 лет, младше 17 лет, младше 16 лет, младше 15 лет, младше 14 лет, младше 13 лет, младше 12 лет, младше 11 лет, младше 10 лет, младше 9 лет, младше 8 лет, младше 7 лет, младше 6 лет, младше 5 лет, младше 4 лет, младше 3 лет, младше 2 лет, младше 1 года. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный пациент детского возраста младше 12 месяцев, младше 11 месяцев, младше 10 месяцев, младше 9 месяцев, младше 8 месяцев, младше 7 месяцев, младше 6 месяцев, младше 5 месяцев, младше 4 месяцев, младше 3 месяцев, младше 2 младше, младше 1 месяца. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный пациент детского возраста младше 4 недели, младше 3 недель, младше 2 недель, младше 1 недели. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный пациент детского возраста младше 7 дней, младше 6 дней, младше 5 дней, младше 4 дней, младше 3 дней, младше 2 дней или младше 1 дня. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный пациент детского возраста является новорожденным. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный пациент детского возраста является недоношенным. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный пациент детского возраста является новорожденным.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный пациент имеет вес менее 45 кг, вес менее 40 кг, вес менее 35 кг, вес менее 30 кг, вес менее 25 кг, вес менее 20 кг, менее вес менее 15 кг, вес менее 14 кг, вес менее 10 кг, вес менее 5 кг, вес менее 4 кг, вес менее 3 кг, вес менее 2 кг или менее 1 кг.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанного субъекта лечат облучением. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанного субъекта лечат хирургическим путем. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанного субъекта лечат при помощи адоптивной Т-клеточной терапии.

В некоторых вариантах реализации указанный рак больше не реагирует на лечение при помощи ибрутиниба, бортезомиба, карфилзомиба, темозоламида, бевацизумаба, циклофосфида, гидроксида унорубицина, винкристина, преднизона, цитарабина, цисплатина, ритуксимаба, 5-фторурацила, оксалиплатина, лейковорина, леналидомида, облучения, хирургии или их комбинации.

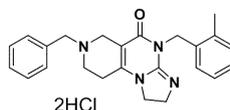
В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения композиции и способы, описанные в настоящем документе, имеют зависимость "доза-эффект" в раковых клетках, которая отличается от зависимости "доза-эффект" тех же самых композиций и способов в нормальных клетках. Например, на фиг. 1 проиллюстрирована зависимость "доза-эффект", которая показывает воздействие соединения (1) на про-

лиферацию и гибель клеток в нормальных и опухолевых клетках. На фиг. 1 показана жизнеспособность клеток после обработки соединением (1) в указанных концентрациях в течение 72 ч. Тестируемые опухоли включали клеточную линию рака толстой кишки человека (HCT116), клеточную линию опухоли молочной железы (MDA-MB-231), клеточную линию первичной глиобластомы человека (U87). Нормальные тестируемые клетки включали фибробласты крайней плоти человека (HFF), фибробласты легких эмбриона человека (MRC-5) и клеточную линию фибробластов легких человека (WI-38). Доксорубин использовали в качестве положительного контроля в количестве 1 мкг/мл на нормальных фибробластах. Как показано на фиг. 1, жизнеспособность нормальных тестируемых клеток составляла по меньшей мере примерно 75% при концентрации примерно 1-5 мг/мл соединения (1), в то время как жизнеспособность опухолевых клеток была значительно ниже (например, на уровне или ниже 50%) при той же концентрации соединения (1). Кроме того, когда концентрация соединения (1) возрастала за пределы примерно 5 мг/мл, жизнеспособность опухолевых клеток падала до уровня ниже 25%, в то время как жизнеспособность нормальных клеток оставалась на уровне примерно 75%.

На фиг. 2 показан анализ жизнеспособности клеток на фибробластах легких эмбриона человека (MRC-5) после 72-часовой обработки соединением (1) (5 мкМ) или ДМСО и указанного периода восстановления в среде, полностью свободной от лекарственного средства, после обработки. Моменты времени приведены как время после удаления соединения (1) после 72-часовой обработки. Как показано на фиг. 2, восстановление клеток наблюдалось с соединением (1), но не с ДМСО.

В некоторых вариантах реализации композиции и способы, описанные в настоящем документе, находят применение при лечении рака у субъекта. В одном варианте реализации композиции и способы, описанные в настоящем документе, находят применение при лечении рака у субъекта, который представляет собой человека. В некоторых вариантах реализации способ лечения включает введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, фармацевтически эффективного количества соединения (1) или соединения (10) или их аналога или их фармацевтически приемлемой соли и фармацевтически приемлемого носителя.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения включает введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении: (i) первого терапевтического агента, включая соединение (1) или соединение (10) или их аналог или их фармацевтически приемлемую соль, в комбинации со (ii) вторым терапевтическим агентом, при этом указанный первый и указанный второй терапевтический агенты вводят одновременно или последовательно. Второй терапевтический агент может представлять собой любой подходящий терапевтический агент, включая любой фармацевтически активный агент, описанный в настоящем документе. Фармацевтически приемлемая соль соединения (1) включает дигидрохлоридную соль, приведенную ниже



Следует понимать, что дигидрохлоридная соль соединения (1) или его аналога (включая, но не ограничиваясь ими, соединение формулы (10)) или их альтернативная дисоль, описанная в настоящем документе, может быть заменена соединением (1) или его аналогом в композиции или режиме дозирования, описанных в настоящем документе.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанный способ лечения включает введение синергетической фармацевтической комбинации, или одновременно, или последовательно, субъекту, нуждающемуся в таком лечении, где указанная синергетическая фармацевтическая комбинация содержит (i) первый терапевтический агент, содержащий соединение (1) или соединение (10) или их фармацевтически приемлемую соль; и (ii) второй терапевтический агент. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения включает введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, одновременно или последовательно, терапевтически синергетически эффективного количества указанного первого терапевтического агента в комбинации с указанным вторым терапевтическим агентом. В одном варианте реализации указанный способ лечения включает введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества указанного первого терапевтического агента в комбинации с эффективным количеством указанного второго терапевтического агента, при этом указанная комбинация производит синергетический эффект при лечении *in vivo* рака, чувствительного к комбинации, и при этом указанные первый и второй терапевтические агенты вводят одновременно или последовательно. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения включает введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества указанного первого терапевтического агента в комбинации с эффективным количеством указанного второго терапевтического агента, в котором указанная комбинация производит синергетический эффект при лечении *in vivo* минимальной остаточной болезни, чувствительной к указанной комбинации, и при этом первый и второй терапевтические агенты вводят одновременно или последовательно.

В некоторых вариантах реализации второй терапевтический агент может быть введен до или перед первым терапевтическим агентом.

В одном варианте реализации способ лечения направлен на рак, выбранный из группы, состоящей из солидных опухолей, гемобластозов (liquid tumors), лимфом, лейкозов или миелом.

В одном варианте реализации способ лечения направлен на солидную опухоль, где солидная опухоль выбрана из группы, состоящей из рака шейки матки, рака эндометрия, экстракраниальных герминогенных опухолей; внегонадных герминогенных опухолей; герминогенной опухоли; гестационной трофобластической опухоли; рака яичников, герминогенной опухоли яичников, эпителиального рака яичников и опухоли яичников с низким злокачественным потенциалом; рака полового члена, рака предстательной железы; рака молочной железы беременных; рака предстательной железы высокой степени; рака предстательной железы средней степени; рака предстательной железы низкой степени; кастрационно-резистентного рака предстательной железы; рака молочной железы; рака желчных протоков; рака внепеченочных желчных протоков; рака желчного пузыря; гепатоцеллюлярного рака (печени); рака (почечно-клеточного) почки; рака печени, почечно-клеточного рака (почки), рака почечной лоханки и мочеточника; базально-клеточной карциномы; синдрома базально-клеточного невуса, синдрома Горлина, меланомы, карциномы из клеток Меркеля, папилломатоза, синдрома множественной эндокринной неоплазии; рака поджелудочной железы, рака парашитовидной железы, меланомы глаза; рака глаз; ретинобластомы; злокачественной фиброзной гистиоцитомы; семейства сарком Юинга; десмопластической мелкокругло-клеточной опухоли; хондросаркомы, саркомы Капоши, рабдомиосаркомы; опухолей спинного мозга, лептоменингеальной болезни, эмбриональных опухолей центральной нервной системы, хордомы, эмбриональных опухолей центральной нервной системы, эпендимобластомы, эпендимомы, нейробластомы; опухолей паренхимы шишковидной железы промежуточной дифференцировки, пинеобластомы; адreno-кортикальной карциномы; рака костей, остеосаркомы; злокачественной фиброзной гистиоцитомы костей и остеосаркомы; остеосаркомы и злокачественной фиброзной гистиоцитомы костей; карциноидной опухоли, карциномы неизвестной первичной локализации, опухолей бронхов, рака легких, плевропульмональной бластомы; карциномы дыхательных путей с вовлечением NUT-гена на хромосоме 15, астроцитом, атипичной тератоидной/рабдоидной опухоли; атипичной тератоидной/рабдоидной опухоли центральной нервной системы, краниофарингиомы, глиомы, рака головного мозга, медуллобластомы, медуллоэпителиомы, супратенториальных примитивных нейроэктодермальных опухолей; опухоли гипофиза; рака желудка, карциноидной опухоли желудочно-кишечного тракта, гастроинтестинальной стромальной опухоли (GIST), рака мочевого пузыря, рака анального канала и рака прямой кишки, рака аппендикса, рака пищевода, гипофарингеального рака; рака гортани, рака губ и полости рта, метастатический плоскоклеточный рак шеи с неизвестной первичной локализацией, рака ротовой полости, рака носовой полости и околоносовых пазух, рака носоглотки, рака полости рта, рака губ и полости рта, рака ротоглотки, рака околоносовых пазух и носовой полости, рака глотки; рака головы и шеи и мезотелиомы.

В одном варианте реализации способ лечения направлен на лимфому, выбранную из группы, состоящей из диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, СПИД-ассоциированной лимфомы, Т-клеточной лимфомы кожи, синдрома Сезари, фунгоидного микоза (ФМ); гистиоцитоза; лимфомы Беркитта и лимфомы центральной нервной системы; неходжкинской лимфомы и первичной лимфомы центральной нервной системы, лимфомы Ходжкина, макроглобулинемии Вальденстрема; фунгоидного микоза; первичной лимфомы центральной нервной системы; лимфоплазмочитарной лимфомы и первичной лимфомы центральной нервной системы.

В одном варианте реализации способ лечения направлен на неходжкинскую лимфому (НХЛ), выбранную из группы, состоящей из мантийноклеточной лимфомы, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы маргинальной зоны, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, лимфоплазмочитарной НХЛ, макроглобулинемии Вальденстрема и лимфом кожи.

В одном варианте реализации способ лечения направлен на лейкоз, выбранный из группы, состоящей из острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), хронических миелопролиферативных заболеваний; волосатоклеточного лейкоза; острого миелоидного лейкоза (ОМЛ); хронического миелогенного лейкоза (ХМЛ) и лангергансоклеточного гистиоцитоза.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения направлен на острый лейкоз, выбранный из группы, состоящей из острого лимфоцитарного лейкоза, острого миелоидного лейкоза, хронического лимфобластного лейкоза, хронического миелоидного лейкоза, миелодиспластического синдрома и миелопролиферативного заболевания.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения направлен на миелому, выбранную из группы, состоящей из IgA-миеломы; IgG-миеломы; IgM-миеломы; IgD-миеломы; IgE-миеломы; легкоцепочечной миеломы; несекретирующей миеломы; множественной миеломы/плазмноклеточного новообразования, множественной миеломы, миелодиспластических синдромов, миелодиспластических/миелолиферативных новообразований и миелолиферативных заболеваний.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения направлен на рак, выбранный из группы, состоящей из острого лимфобластного лейкоза, острого миелоидного лейкоза, аденокортикальной карциномы, СПИД-ассоциированных раков, СПИД-ассоциированной лимфомы, рака анального канала и рака прямой кишки, рака аппендикса, астроцитомы и атипичной тератоид-

ной/рабдоидной опухоли.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения направлен на рак, выбранный из группы, состоящей из базально-клеточной карциномы, синдрома базально-клеточного невуса, синдрома Горлина, рака желчных протоков, рака мочевого пузыря, рака костей, остеосаркомы и злокачественной фиброзной гистиоцитомы, опухоли головного мозга, рака молочной железы, опухоли бронхов, лимфомы Беркитта и опухоли спинного мозга.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения направлен на рак, выбранный из группы, состоящей из карциноидной опухоли, карциномы неизвестной первичной локализации, атипичной тератоидной/рабдоидной опухоли центральной нервной системы, лептоменингеальной болезни, эмбриональной опухоли центральной нервной системы, лимфомы центральной нервной системы, рака шейки матки, хордомы, хронического лимфоцитарного лейкоза, хронического миелогенного лейкоза, хронических миелопролиферативных заболеваний, рака толстой кишки, колоректального рака, краниофарингиомы и Т-клеточной лимфомы кожи (включая, но не ограничиваясь, синдром Сезари и фунгоидный микоз).

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения направлен на рак, выбранный из группы, состоящей из эмбриональных опухолей центральной нервной системы, рака эндометрия, эпендимобластомы, эпендимомы, рака пищевода, семейства сарком Юинга, десмопластической мелкокруглоклеточной опухоли, хондросаркомы, экстракраниальных герминогенных опухолей, внегонадных герминогенных опухолей, рака внепеченочных желчных протоков и рака глаз, включая внутриглазную меланому и ретинобластому.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения направлен на рак, выбранный из группы, состоящей из рака желчного пузыря, рака желудка, карциноидной опухоли желудочно-кишечного тракта, гастроинтестинальной стромальной опухоли (GIST), герминогенной опухоли, гестационной трофобластической опухоли и глиомы.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения направлен на рак, выбранный из группы, состоящей из волосатоклеточного лейкоза, рака головы и шеи, гепатоцеллюлярного рака (печени), гистиоцитоза, лимфомы Ходжкина и гипофарингеального рака.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения направлен на рак, выбранный из группы, состоящей из саркомы Капоши и рака почки (почечно-клеточного рака).

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения направлен на рак, выбранный из группы, состоящей из лингергансоподобной гистиоцитомы, рака гортани, рака губ и полости рта, рака печени, рака легких, включая немелкоклеточный рак легких и мелкоклеточный рак легких, неходжкинской лимфомы и первичной лимфомы центральной нервной системы.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения направлен на рак, выбранный из группы, состоящей из макроглобулинемии Вальденстрема (лимфоплазмозитарная лимфома), злокачественной фиброзной гистиоцитомы костей и остеосаркомы, медуллобластомы, медуллоэпителиомы, меланомы, карциномы из клеток Меркеля, мезотелиомы, метастатического плоскоклеточного рака шеи с неизвестной первичной локализацией, синдрома множественной эндокринной неоплазии, рака ротовой полости, множественной миеломы/плазмноклеточного новообразования, фунгоидного микоза, миелодиспластических синдромов, миелодиспластических/миелолиферативных новообразований, множественной миеломы и миелолиферативных заболеваний.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения полезен для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из рака носовой полости и околоносовых пазух, рака носоглотки и нейробластомы.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения полезен для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из рака полости рта, рака губ и полости рта, рака ротоглотки, остеосаркомы и злокачественной фиброзной гистиоцитомы костей, рака яичников, герминогенной опухоли яичников, эпителиального рака яичников и опухоли яичников с низким злокачественным потенциалом.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения полезен для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из рака поджелудочной железы, папилломатоз, рака околоносовых пазух и носовой полости, рака парашитовидной железы, рака полового члена, рака глотки, опухоли паренхимы шишковидной железы промежуточной дифференцировки, пинеобластомы и супратенториальных примитивных нейроэктодермальных опухолей, опухоли гипофиза, плевропальмональной бластомы, рака молочной железы у беременных, первичной лимфомы центральной нервной системы и рака предстательной железы.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ полезен для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из рака прямой кишки, почечно-клеточного рака (почки), рака почечной лоханки и мочеточника, карциномы дыхательных путей с вовлечением NUT-гена на хромосоме 15, ретинобластомы и рабдомиосаркомы.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения полезен для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из рака слюнных желез, саркомы, синдрома Сезари, рака

кожи, карциномы кожи, рака тонкого кишечника, саркомы мягких тканей, плоскоклеточной карциномы, плоскоклеточного рака шеи с неизвестной первичной локализацией и супратенториальных примитивных нейроэктодермальных опухолей.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения полезен для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из Т-клеточной лимфомы, рака яичек, рака гортани, тимомы и карциномы тимуса, рака щитовидной железы, переходно-клеточного рака почечной лоханки и мочеточника и гестационной трофобластической опухоли.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения полезен для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из карциномы неизвестной первичной локализации, рака неизвестной первичной локализации, необычных раков детского возраста, переходно-клеточного рака почечной лоханки и мочеточника, рака уретры и саркомы матки.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения полезен для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из вагинального рака и рака вульвы.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный способ лечения полезен для лечения рака, выбранного из группы, состоящей из опухоли Вильмса и женских раков.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения лечение рака включает предотвращение роста опухоли у субъекта с раком. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения лечение рака включает предотвращение образования раковых метастаз у субъекта с раком. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения лечение рака включает направленное лечение минимальной остаточной болезни у субъекта с раком, для которого известно, что он имеет минимальную раковую остаточную болезнь, или у субъекта с риском наличия минимальной остаточной болезни.

Это может быть показано после лечения первичной опухоли хирургическим путем и/или после начала химиотерапии (например, лучевой терапии) или определения их эффективности. Диссеминированные опухолевые клетки могут находиться в состоянии покоя и часто не могут быть атакованы химиотерапией (лучевой терапией). Пролеченный таким образом пациент, казалось бы, находится в состоянии исцеления, и упоминается как "минимальной остаточной болезнью". Тем не менее, покоящиеся опухолевые клетки обладают потенциалом формирования метастаз, если они становятся метастазирующими клетками из-за стимула роста после длительного состояния покоя.

Используемый в настоящем описании термин "минимальная остаточная болезнь" обозначает небольшое количество раковых клеток, которое остается у субъекта во время лечения или после лечения, когда субъект находится в стадии ремиссии (не проявляет никаких симптомов или признаков заболевания). Способы, описанные в настоящем документе, предпочтительно применяют к формам заболеваний, перечисленным в настоящем документе, включая взрослые и детские формы этих заболеваний.

В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный терапевтический агент содержит фармацевтически приемлемую моносоль соединения по изобретению. В одном варианте реализации терапевтический агент содержит фармацевтически приемлемую дисоль соединения по изобретению. Как описано в настоящем документе, некоторые аналоги могут представлять собой трисоли. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный первый терапевтический агент содержит соединение по изобретению в форме фармацевтически приемлемой моно- или дисоли, выбранной из группы, состоящей из гидрохлорида, гидробромида, бисульфата, сульфатов, фосфатов, fumarатов, сукцинатов, оксалатов и лактатов, бисульфатов, гидроксидов, тартрата, нитрата, цитрата, битартрата, карбоната, малата, малеата, fumarатсульфоната, метилсульфоната, формиата, ацетата и карбоксилата. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный терапевтический агент содержит соединение по изобретению в форме фармацевтически приемлемой моно- или дисоли, выбранной из п-толуолсульфоната, бензолсульфоната, метансульфоната, оксалата, сукцината, тартрата, цитрата, fumarата и малеата. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный терапевтический агент содержит соединение по изобретению в форме фармацевтически приемлемой моно- или дисоли, имеющей противоион, выбранный из группы, состоящей из аммония, натрия, калия, кальция, магния, цинка, лития и/или противоионов, таких как противоионы метиламино, диметиламино, диэтиламино, триэтиламино и их комбинаций. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанный терапевтический агент содержит соединение, описанное в настоящем документе, в форме галогенидной дисоли, такой как дигидрохлоридная или дигидробромидная соль.

Фармацевтические композиции можно вводить субъекту с помощью любого подходящего пути введения. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту перорально, парентерально, трансдермально или трансмукозально. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту парентерально. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту посредством парентерального пути введения, выбранного из группы, состоящей из внутривенного (в/в), подкожного (п/к) и внутримышечного (в/м) пути. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту посредством пути введения, выбранного из ректального и трансдермального пути. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту в лекарственной

форме, выбранной из группы, состоящей из стерильных растворов, суспензий, суппозиториев, таблеток и капсул. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту в пероральной лекарственной форме, выбранной из группы, состоящей из таблетки, каплеты, капсулы, пастилки, сиропа, жидкости, суспензии и эликсира. В одном варианте реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту в пероральной лекарственной форме выбранной из группы, состоящей из таблеток, твердых капсул, мягких желатиновых капсул, шариков, гранул, агрегатов, порошков, гелей, твердых и полутвердых форм.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту в виде лекарственной формы, выбранной из группы из группы, состоящей из форм с замедленным высвобождением, форм с контролируемым высвобождением, форм с отсроченным высвобождением и форм с ответным высвобождением.

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту один раз в сутки. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту в соответствии с редким режимом дозирования (например, вводят один раз в неделю или менее часто). В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту в соответствии с частым режимом дозирования (например, вводят более одного раза в неделю). В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту один раз в неделю. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту каждые четыре недели. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту два раза в неделю. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту один раз в две недели. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту каждые три недели. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту в виде повторяющегося цикла один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые три недели, один раз каждые четыре недели или их комбинаций.

В некоторых вариантах реализации способ лечения дополнительно включает мониторинг уровня соединения терапевтического агента или его метаболита у субъекта с помощью оценки фармакокинетических показателей. В некоторых таких вариантах реализации контроль уровня соединения терапевтического агента или его метаболита у субъекта с помощью оценки фармакокинетических показателей включает построение фармакокинетического профиля соединения терапевтического агента или его метаболита для субъекта, используя концентрации соединения терапевтического агента или его метаболита по меньшей мере в двух образцах, полученных от указанного субъекта в моменты времени, подходящие для создания фармакокинетического профиля. В некоторых вариантах реализации способа, который включает наблюдение за уровнями соединения терапевтического агента или его метаболита у субъекта с помощью фармакокинетических показателей, образцы собирают у субъекта по месту лечения или по месту применения путем отбора проб или самостоятельного отбора проб в устройства по месту лечения или устройства по месту использования или в матрицы, пригодные для хранения образцов, до количественного определения в лаборатории. В некоторых вариантах реализации указанного способа лечения каждое из устройств по месту лечения или устройств по месту применения способно количественно определять соединение первого терапевтического агента или его метаболита. В некоторых вариантах реализации способа, который включает наблюдение за уровнем соединения первого терапевтического агента или его метаболита у субъекта, один или более образцов отбирают у субъекта по месту лечения или по месту применения посредством устройства для биопсии для анализа устройствами по месту лечения или по месту применения или для хранения до анализа в лаборатории. В некоторых вариантах реализации способа биопсию выполняют после истечения временного интервала 3-8 ч после введения первого терапевтического агента указанному субъекту. В некоторых вариантах реализации способа биопсию выполняют после истечения временного интервала 3-24 ч после введения первого терапевтического агента указанному субъекту. В некоторых вариантах реализации способа биопсию выполняют после истечения временного интервала 8-24 ч после введения первого терапевтического агента указанному субъекту. В некоторых вариантах реализации способа биопсию выполняют после истечения временного интервала в 2 суток после введения первого терапевтического агента указанному субъекту. В некоторых вариантах реализации способа биопсию выполняют после истечения временного интервала в 3 суток после введения первого терапевтического агента указанному субъекту. В некоторых вариантах реализации способа биопсию выполняют после истечения временного интервала в 4 суток после введения первого терапевтического агента указанному субъекту. В некоторых вариантах реализации способа биопсию выполняют после истечения временного интервала в 1-7 суток после введения первого терапевтического агента.

В некоторых вариантах реализации способа лечения фармакокинетический профиль включает фармакокинетические параметры, подходящие для регулирования дозирования терапевтического агента субъекту, подлежащему лечению. В некоторых вариантах реализации способа лечения максимальная концентрация терапевтического агента в крови (цельной крови, плазме или сыворотке) ( $C_{max}$ ) субъекта

после его введения указанному субъекту находится в диапазоне примерно от 1000 до 1500 нг/дл в течение терапевтического периода времени. В некоторых вариантах реализации  $C_{\max}$  составляет менее 1500 нг/дл и более 85 нг/дл в течение терапевтического периода времени. В некоторых вариантах реализации способа лечения максимальная концентрация первого терапевтического агента в крови (цельной крови, плазме или сыворотке) (" $C_{\max}$ ") субъекта после его введения указанному субъекту находится в диапазоне примерно от 1000 до 1500 нг/дл в течение терапевтического периода времени. В некоторых вариантах реализации  $C_{\max}$  составляет менее 1500 нг/мл и более 85 нг/мл в течение терапевтического периода времени.

В некоторых вариантах реализации максимальная концентрация терапевтического агента в крови (цельной крови, плазме или сыворотки) (" $C_{\max}$ ") субъекта после введения указанному субъекту составляет  $C_{\max}$  от примерно 1000, 1010, 1020, 1030, 1040, 1050, 1060, 1070, 1080, 1090, 1100, 1110, 1120, 1130, 1140, 1150, 1160, 1170, 1180, 1190, 1200, 1210, 1220, 1230, 1240, 1250, 1280, 1290, 1300, 1310, 1320, 1330, 1340, 1350, 1360, 1370, 1380, 1390, 1400, 1410, 1420, 1430, 1440, 1450, 1460, 1470, 1480 или 1490 до примерно 1500 нг/дл; от примерно 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148 или 149 до примерно 150 нг/дл или от примерно 10, 10,5, 11, 11,5, 12, 12,5, 13, 13,5, 14 или 14,5 до примерно 15 нг/дл.

В некоторых вариантах реализации максимальная концентрация терапевтического агента в крови (цельной крови, плазме или сыворотки) (" $C_{\max}$ ") субъекта после введения составляет  $C_{\max}$  от примерно 1000, 1010, 1020, 1030, 1040, 1050, 1060, 1070, 1080, 1090, 1100, 1110, 1120, 1130, 1140, 1150, 1160, 1170, 1180, 1190, 1200, 1210, 1220, 1230, 1240, 1250, 1280, 1290, 1300, 1310, 1320, 1330, 1340, 1350, 1360, 1370, 1380, 1390, 1400, 1410, 1420, 1430, 1440, 1450, 1460, 1470, 1480 или 1490 до примерно 1500 нг/мл; от примерно 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148 или 149 до примерно 150 нг/мл или от примерно 10, 10,5, 11, 11,5, 12, 12,5, 13, 13,5, 14 или 14,5 до примерно 15 нг/мл.

В некоторых вариантах реализации максимальная концентрация терапевтического агента в крови (цельной крови, плазме или сыворотки) (" $C_{\max}$ ") субъекта после введения выбрана из примерно 1000, 1010, 1020, 1030, 1040, 1050, 1060, 1070, 1080, 1090, 1100, 1110, 1120, 1130, 1140, 1150, 1160, 1170, 1180, 1190, 1200, 1210, 1220, 1230, 1240, 1250, 1260, 1270, 1280, 1290, 1300, 1310, 1320, 1330, 1340, 1350, 1360, 1370, 1380, 1390, 1400, 1410, 1420, 1430, 1440, 1450, 1460, 1470, 1480 или 1490 нг/дл. В некоторых вариантах реализации максимальная концентрация терапевтического агента в крови (цельной крови, плазме или сыворотки) (" $C_{\max}$ ") субъекта после введения выбрана из примерно 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148 или 1490 нг/дл. В некоторых вариантах реализации максимальная концентрация терапевтического агента в крови (цельной крови, плазме или сыворотке) (" $C_{\max}$ ") субъекта после введения выбрана из примерно 10, 10,5, 11, 11,5, 12, 12,5, 13, 13,5, 14 или 14,5 нг/дл.

В некоторых вариантах реализации максимальная концентрация терапевтического агента в крови (цельной крови, плазме или сыворотки) (" $C_{\max}$ ") субъекта после введения выбрана из примерно 1000, 1010, 1020, 1030, 1040, 1050, 1060, 1070, 1080, 1090, 1100, 1110, 1120, 1130, 1140, 1150, 1160, 1170, 1180, 1190, 1200, 1210, 1220, 1230, 1240, 1250, 1260, 1270, 1280, 1290, 1300, 1310, 1320, 1330, 1340, 1350, 1360, 1370, 1380, 1390, 1400, 1410, 1420, 1430, 1440, 1450, 1460, 1470, 1480 или 1490 нг/мл. В некоторых вариантах реализации максимальная концентрация терапевтического агента в крови (цельной крови, плазме или сыворотки) (" $C_{\max}$ ") субъекта после введения выбрана из примерно 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148 или 149 нг/мл. В некоторых вариантах реализации максимальная концентрация первого терапевтического агента в крови (цельной крови, плазме или сыворотке) (" $C_{\max}$ ") субъекта после введения выбрана из примерно 10, 10,5, 11, 11,5, 12, 12,5, 13, 13,5, 14 или 14,5 нг/мл.

В некоторых вариантах реализации максимальная концентрация терапевтического агента в крови (цельной крови, плазме или сыворотке) (" $C_{\max}$ ") субъекта после введения выбрана из примерно 85, 95, 105, 115, 125, 135, 145, 155, 165, 175, 185, 195, 205, 215, 225, 235, 245, 255, 265, 275, 285, 295, 305, 315, 325, 335, 345, 355, 365, 375, 385, 395, 405, 415, 425, 435, 445, 455, 465, 475, 485, 495, 505, 515, 525, 535, 545, 555, 565, 575, 585, 595, 605, 615, 625, 635, 645, 655, 665, 675, 685, 695, 705, 715, 725, 735, 745, 755, 765, 775, 785, 795, 805, 815, 825, 835, 845, 855, 865, 875, 885, 895, 905, 915, 925, 935, 945, 955, 965, 975, 985, 995, 1005, 1015, 1025, 1035, 1045, 1055, 1065, 1075, 1085, 1095, 1105, 1115, 1125, 1135, 1145, 1155, 1165, 1175, 1185, 1195, 1205, 1215, 1225, 1235, 1245, 1255, 1265, 1275, 1285, 1295, 1305, 1315, 1325, 1335, 1345, 1355, 1365, 1375, 1385, 1395, 1405, 1415, 1425, 1435, 1445, 1455, 1465, 1475, 1485, 1495 или 1500 нг/дл. В некоторых вариантах реализации максимальная концентрация терапевтического агента в крови (цельной крови, плазме или сыворотке) (" $C_{\max}$ ") субъекта после введения выбрана из примерно 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40,



56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148 или 149 до примерно 150 нг/мл или от примерно 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5, 11, 11,5, 12, 12,5, 13, 13,5, 14 или 14,5 до примерно 15 нг/мл.

В некоторых вариантах реализации указанного способа указанная общая экспозиция лекарственного средства в течение времени, измеренная как площадь под кривой ("AUC") графика зависимости концентрации лекарственного средства в крови (цельной крови, плазме или сыворотке) указанного субъекта после введения лекарственного средства от времени после введения лекарственного средства, находится в диапазоне примерно от 150 примерно до 8000 нг ч/мл; от примерно 15 до примерно 800 нг ч/мл; от примерно 1,5 до примерно 80 нг ч/мл. В некоторых вариантах реализации AUC составляет менее 8000 нг ч/мл и более или равна 150 нг ч/мл. В некоторых вариантах реализации AUC составляет менее 800 нг ч/мл и более или равна 15 нг ч/мл. В некоторых вариантах реализации AUC составляет менее 80 нг ч/мл и более или равна 1,5 нг ч/мл.

В некоторых вариантах реализации указанного способа общая экспозиция лекарственного средства в течение времени составляет AUC от примерно 100 до примерно 8000 нг ч/мл; от примерно 10 до примерно 800 нг ч/мл или от примерно 1 до примерно 80 нг ч/мл. В некоторых вариантах реализации общая экспозиция лекарственного средства в течение времени составляет AUC от примерно 150, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 2000, 2200, 2400, 2600, 2800, 3000, 3200, 3400, 3600, 3800, 4000, 4200, 4400, 4600, 4800, 5000, 5200, 5400, 5600, 5800, 6000, 6200, 6400, 6600, 6800, 7000, 7200, 7400, 7600 или 7800 до примерно 8000 нг ч/мл. В некоторых вариантах реализации общая экспозиция лекарственного средства в течение времени составляет AUC от 15, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320, 340, 360, 380, 400, 420, 440, 460, 480, 500, 520, 540, 560, 580, 600, 620, 640, 660, 680, 700, 720, 740, 760 или 780 до примерно 800 нг ч/мл. В некоторых вариантах реализации общая экспозиция лекарственного средства в течение времени составляет AUC от примерно 1,5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76 или 780 до примерно 80 нг ч/мл.

В некоторых вариантах реализации указанного способа общая экспозиция лекарственного средства в течение времени составляет AUC от примерно 100 до примерно 8000 нг ч/мл, от примерно 10 до примерно 800 нг ч/мл или от примерно 1 до примерно 80 нг ч/мл. В некоторых вариантах реализации общая экспозиция лекарственного средства в течение времени составляет AUC от примерно 150 до примерно 7800, 7600, 7400, 7200, 7000, 6800, 6600, 6400, 6200, 6000, 5800, 5600, 5400, 5200, 5000, 4800, 4600, 4400, 4200, 4000, 3800, 3600, 3400, 3200, 3000, 2800, 2600, 2400, 2200, 2000, 1800, 1600, 1400, 1200, 1000, 800, 600, 400 или 200 нг ч/мл. В некоторых вариантах реализации общая экспозиция лекарственного средства в течение времени составляет AUC от примерно 15 до примерно 780, 760, 740, 720, 700, 680, 660, 640, 620, 600, 580, 560, 540, 520, 500, 480, 460, 440, 420, 400, 380, 360, 340, 320, 300, 280, 260, 240, 220, 200, 180, 160, 140, 120, 100, 80, 60, 40 или 20 нг ч/мл. В некоторых вариантах реализации общая экспозиция лекарственного средства в течение времени составляет AUC от примерно 1,5 до примерно 78, 76, 74, 72, 70, 68, 66, 64, 62, 60, 58, 56, 54, 52, 50, 48, 46, 44, 42, 40, 38, 36, 34, 32, 30, 28, 26, 24, 22, 20, 18, 16, 14, 12, 10, 8, 6, 4 или 2 нг ч/мл. В некоторых вариантах реализации общая экспозиция лекарственного средства в течение времени составляет AUC от примерно 100 до примерно 200 нг ч/мл, от примерно 10 до примерно 20 нг ч/мл или от примерно 1 до примерно 2 нг ч/мл.

В некоторых вариантах реализации указанного способа общая экспозиция лекарственного средства в течение времени составляет AUC, выбранный из примерно 100, 150, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 2000, 2200, 2400, 2600, 2800, 3000, 3200, 3400, 3600, 3800, 4000, 4200, 4400, 4600, 4800, 5000, 5200, 5400, 5600, 5800, 6000, 6200, 6400, 6600, 6800, 7000, 7200, 7400, 7600, 7800 и 8000 нг ч/мл. В некоторых вариантах реализации общая экспозиция лекарственного средства в течение времени составляет AUC, выбранный из примерно 10, 15, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320, 340, 360, 380, 400, 420, 440, 460, 480, 500, 520, 540, 560, 580, 600, 620, 640, 660, 680, 700, 720, 740, 760, 780 и 800 нг ч/мл. В некоторых вариантах реализации указанного способа общая экспозиция лекарственного средства в течение времени составляет AUC, выбранный из примерно 1, 15, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78 и 80 нг ч/мл.

#### VIII. Примеры.

Должно быть понятно, что описание и конкретные примеры, приведенные ниже, предназначены исключительно в целях иллюстрации и не ограничивают объем настоящего изобретения. Следующие примеры предназначены для иллюстрации описанных вариантов реализации и не являются их ограничениями. Дополнительные соединения, отличные от описанных ниже, могут быть получены с применением описанных выше схем реакций или их соответствующих вариантов или модификаций.

Иллюстративный пример 1. Синтез 2-хлорбензиламино-2-имидазолингидроиодида.

К перемешиваемому раствору 2-метилтио-2-имидазолингидроиодида (244 мг, 1,00 ммоль) в сухом

диоксане (2,0 мл) добавляли 2-хлорбензиламин (141 мг, 1,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 90 мин при 70°C в атмосфере аргона. Раствор охлаждали до комнатной температуры, фильтровали на воронке со стеклянным фильтром, промывали холодным диоксаном (2 мл) и сушили в вакууме. Получали белое твердое соединение 4-Н1 (R<sub>2</sub>=2-хлорбензил) (242 мг, 72%) и использовали без дополнительной очистки.

Иллюстративный пример 2. Синтез 2-хлорбензиламино-2-имидазолина.

К перемешиваемому раствору гидроиодида 2-хлорбензиламино-2-имидазолина (242 мг, 0,72 ммоль) в воде (3 мл) добавляли 1,0 н. гидроксид натрия (2 мл) при 7°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при 7°C в атмосфере аргона. После этого добавляли метиленхлорид (5 мл) и полученную смесь перемешивали в течение еще 5 мин. Реакционную смесь экстрагировали метиленхлоридом (2×2,5 мл), органический слой сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и упаривали. Полученное свободное основание (150 мг, 100%) получали в виде вязкой жидкости и использовали для следующей реакции без какой-либо дополнительной очистки. МС (ИЭР) 210 (М+Н).

Иллюстративный пример 3. Синтез метил-1-бензил-4-оксо-3-пиперидинкарбоксилата (соединение (6)).

К перемешиваемому гидрохлориду метил-1-бензил-4-оксо-3-пиперидинкарбоксилата (5,7 г, 20 ммоль) в этилацетате (50 мл) добавляли триэтиламин (6 мл) при 7°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при 7°C в атмосфере аргона. Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (2×50 мл), промывали водой (50 мл). Органический слой сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и упаривали. Полученный остаток свободного основания (5, R<sub>1</sub>=бензил) в виде вязкого масла использовали для следующей реакции без какой-либо дополнительной очистки. МС (ИЭР) 248 (М+Н).

Иллюстративный пример 4. Синтез ONC902 (соединение (14)).

К раствору 2-хлорбензиламино-2-имидазолина (150 мг, 0,72 ммоль), метил-1-бензил-4-оксо-3-пиперидинкарбоксилата (5, R<sub>1</sub>=бензил) (195 мг, 0,79 ммоль) в 1-бутаноле (2 мл) добавляли PPTS (10 мг) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. После этого реакционную смесь нагревали с обратным холодильником при 125-130°C в течение 2 ч. Растворители удаляли в вакууме, экстрагировали этилацетатом (10 мл), промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия (2×10 мл) и водой (10 мл). Органический слой сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и упаривали. Неочищенное свободное основание очищали посредством ОФ ВЭЖХ (10-40% ацетонитрил/вода) с получением соли трифторуксусной кислоты (ТФУ) ONC902 в виде белого твердого вещества (228 мг, выход 50%). МС (ИЭР): 407(М+Н).

Такой же способ использовали с применением различных бензиламинов для получения различных аналогов, например ONC903, 904, 905, 906, 912, 210, 211, 212, 213, 214, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225 и 226.

Иллюстративный пример 5. Синтез ONC907 (соединение (19)).

К суспензии 60% гидрида натрия (3,5 г, 88 ммоль) в сухом толуоле (50 мл) добавляли по каплям диметилкарбонат (4,32 г, 48,0 ммоль) в течение 0,5 ч при комнатной температуре в атмосфере азота. После добавления нескольких капель метанола раствор 1-трет-бутоксикарбонил-4-пиперидона (4,8 г, 24 ммоль), растворенный в сухом толуоле (20 мл), добавляли по каплям к реакционной смеси при перемешивании при 80°C в течение 1 ч. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при той же температуре и затем охлаждали до 0°C (на ледяной бане), и доводили до pH 6-6,5 с помощью уксусной кислоты. Полученную холодную смесь разбавляли водой (10 мл), и доводили pH до 8 с помощью 5%-го раствора гидроксида натрия. Слой толуола отделяли, и водный слой экстрагировали толуолом (20 мл). Объединенный органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Соединение сушили в вакууме с получением метил-1-трет-бутоксикарбонил-4-оксо-3-пиперидинкарбоксилата (5,0 г, 80%). Полученное соединение использовали в следующей реакции без какой-либо дополнительной очистки.

К 2-метилбензиламино-2-имидазолину (190 мг, 1 ммоль), метил-1-трет-бутоксикарбонил-4-оксо-3-пиперидинкарбоксилату (315 мг, 1,1 ммоль) в 1-бутаноле (2 мл) добавляли PPTS (10,0 мг) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. После этого реакционную смесь нагревали с обратным холодильником при 125-130°C в течение 2 ч. Растворители удаляли в вакууме, экстрагировали этилацетатом (10 мл), промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия (2×10 мл) и водой (10 мл). Органический слой сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и упаривали. Неочищенное свободное основание расщепляли с помощью 10% трифторуксусной кислоты в дихлорметане, очищали посредством ОФ ВЭЖХ (10-40% ацетонитрил/вода) с получением соли ТФУ ONC907 (262 мг, 50%) в виде белого твердого вещества. МС(ИЭР) 297(М+Н).

Иллюстративный пример 6. Синтез ONC909 (соединение (21)).

Смесь ONC907 (100 мг, 0,2 ммоль), фенилэтилбромида (55,0 мг, 0,28 ммоль) и карбоната калия (150 мг, 1,0 ммоль) в N,N-диметилформамиде (3 мл) нагревали до 70°C в течение 12 ч. Растворители удаляли в вакууме, экстрагировали этилацетатом (10 мл), промывали водой (5 мл). Органический слой сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и упаривали. Неочищенное свободное основание очищали посред-

ством ОФ ВЭЖХ (10-40% ацетонитрил/вода) с получением соли ТФУ ONC909 (62 мг, 50%) в виде белого твердого вещества. МС(ИЭР) 401(М+Н).

Такой же способ использовали, начиная с различных галогенидов, для получения ONC910 и 214. Соединения 227, 228, 229 и 230 (плюс соединения, перечисленные в табл. X, получали с применением аналогичного способа из примеров 1 и 5, начиная с другого бензиламина.

Соединение ONC911 получали из ONC910 путем обработки ТФУ.

Соединение (72) получали путем взаимодействия предшественника NH-соединения, полученного по аналогии с примером 5, и обработки его оксидом стирила.

Иллюстративный пример 7. Синтез ONC908 (соединение (20)).

К раствору 2-метилбензиламино-2-имидазолина (190,0 мг, 1,0 ммоль), метил-1-метил-4-оксо-3-пиперидинкарбоксилата (185,0 мг, 1,0 ммоль) в 1-бутаноле (2,0 мл) добавляли PPTS (10,0 мг) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. После этого реакционную смесь нагревали с обратным холодильником при 125-130°C в течение 2 ч. Растворители удаляли в вакууме, экстрагировали этилацетатом (10 мл), промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия (2×10 мл) и водой (10 мл). Органический слой сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и упаривали. Неочищенное свободное основание очищали посредством ВЭЖХ с применением 10-40% ацетонитрила и воды с получением соли ТФУ ONC908 (270,0 мг, 50%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР) 311 (М+Н).

Иллюстративный пример 8. Синтез ONC201 (соединение (1)).

К перемешиваемому насыщенному раствору NaHCO<sub>3</sub> объемом 800 мл в круглодонной колбе объемом 2 л добавляли порциями соединение (3) (239,7 г, 0,845 моль, 1,6 экв.). К полученной смеси добавляли н-бутанол (500 мл) и смесь перемешивали в течение 30 мин и затем переносили в делительную воронку. Органическую фазу, содержащую соединение (4), отделяли и переносили в трехгорлую круглодонную колбу объемом 2 л, снабженную механической мешалкой, входным клапаном для подачи N<sub>2</sub>, термopарой, холодильником и ловушкой Дина-Старка. К содержимому колбы добавляли соединение (5) (100 г, 0,528 моль, 1 экв.) и п-толуолсульфонат пиридиния (PPTS) (6,63 г, 0,026 моль, 5 мол.%). Полученную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 6 ч. Воду в реакционной смеси при необходимости отделяли при помощи ловушки Дина-Старка. Температуру получения конденсата при нагревании с обратным холодильником увеличивали от 93 до 118°C. Ход реакции контролировали посредством ВЭЖХ. Когда площадь пика соединения (1) посредством ВЭЖХ-анализа оставалась постоянной с течением времени реакции, реакцию останавливали.

Иллюстративный пример 9. Синтез дисоли ONC201 (соединение (1)·2HCl).

Без выделения соединения (1) реакционную смесь, полученную в соответствии с примером 8, промывали 500 мл воды и разбавляли метил-трет-бутиловым эфиром (МТБЭ) (800 мл). Органическую фазу промывали водой (500 мл×2) и переносили в трехгорлую круглодонную колбу объемом 3 л, снабженную механической мешалкой, входным клапаном для подачи N<sub>2</sub>, термopарой, холодильником и ловушкой Дина-Старка. При перемешивании реакционной смеси добавляли по каплям 1 н. HCl в растворе диоксана-МТБЭ (4 н. HCl в диоксане: 300 мл, 1,2 моль, 2,27 экв.; МТБЭ: 1200 мл) до тех пор, пока при добавлении HCl из реакционной смеси не прекращалось выпадение в осадок твердого вещества. Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником при 60-65°C в течение 2 ч. Воду при необходимости отделяли при помощи ловушки Дина-Старка. По мере охлаждения до комнатной температуры твердый осадок фильтровали через воронку со стеклянным фильтром и промывали н-бутанолом-МТБЭ (1:2, 600 мл) и МТБЭ (600 мл) соответственно. Твердое вещество сушили в вакуумном сушильном шкафу при 65°C в течение ночи (16 ч) с получением 200 г желтого твердого вещества.

В трехгорлую круглодонную колбу объемом 2 л, снабженную механической мешалкой, входным клапаном для подачи N<sub>2</sub>, термopарой и холодильником, добавляли вышеуказанное твердое вещество (200 г) с последующим добавлением этанола (1000 мл). Смесь нагревали с обратным холодильником при 78°C в течение 2 ч. По мере охлаждения до комнатной температуры твердое вещество фильтровали через воронку со стеклянным фильтром и промывали этанолом (200 мл×3). Влажное твердое вещество сушили в вакуумном сушильном шкафу при 85°C в течение 3 дней до тех пор, пока содержание остаточного растворителя не удовлетворяло требованиям. Получали 120 г соединения (2) в виде белого твердого вещества с выходом 49%, при этом чистота по ВЭЖХ составляла 99,7%.

Пример 10. Активность аналогов соединения (1).

Ряд иллюстративных аналогов соединения (1) был получен на основе синтезов, описанных в настоящем документе. Для каждого из указанных соединений измеряли жизнеспособность раковых клеток человека через 72 ч после обработки указанным соединением. Изменение активности (относительно ONC201) определяли и представляли в таблице ниже.

## Относительная активность аналогов соединения (1)

№	Идентификатор	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Относительная активность*
1	ONC201	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> -((2-CH <sub>3</sub> )-Ph)	Нет данных
14	ONC902	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> -(2-Cl-Ph)	В
15	ONC903	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> -(2-тиенил)	С
16	ONC904	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	В
17	ONC905	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> (4-N-бензил-пиперазин)	С
18	ONC906	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> -(2,4-ди F-Ph)	А
19	ONC907	H	CH <sub>2</sub> -((2-CH <sub>3</sub> )-Ph)	С
20	ONC908	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> -((2-CH <sub>3</sub> )-Ph)	В
21	ONC909	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> -((2-CH <sub>3</sub> )-Ph)	В
32	ONC910	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH-BOC	CH <sub>2</sub> -((2-CH <sub>3</sub> )-Ph)	В
33	ONC911	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> -((2-CH <sub>3</sub> )-Ph)	В
41	ONC210	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> -(3,5-ди F-Ph)	А
51	ONC211	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> -(3,4-ди Cl-Ph)	А
52	ONC212	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> -(4-CF <sub>3</sub> -Ph)	А
53	ONC213	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> -(3,4-ди F-Ph)	А
54	ONC214	CD <sub>2</sub> C <sub>6</sub> D <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> -((2-CH <sub>3</sub> )-Ph)	В
43	ONC217	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> (2-F-Ph)	В
55	ONC218	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> (2-CH <sub>3</sub> , 4-F-Ph)	А
56	ONC219	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> -(2,4-ди Cl-Ph)	А
57	ONC220	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> -(4-OCH <sub>3</sub> -Ph)	А
35	ONC222	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> -(3-изоксазолидинил)	В
36	ONC224	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -(4-морфолинил)	А
38	ONC221	H	CH <sub>2</sub> -(4-CF <sub>3</sub> -Ph)	А
72	ONC225	CH <sub>2</sub> Ph	CH <sub>2</sub> -(2-F, 4-CF <sub>3</sub> -Ph)	А

\* - в отношении активности ONC201; А обозначает увеличение активности в 2 раза от ONC201; В обозначает активность, которая находится в пределах 2 раз от ONC201; и С обозначает снижение эффективности в 2 раза от ONC201.

Кроме того, однократная доза соединения (52), введенная перорально или внутривенно мышам, несущим ксенотрансплантат рака толстой кишки человека, приводила к значительному уменьшению объема опухоли по сравнению с контрольными группами, обработанными носителем. Соединение (52) имеет широкий терапевтический диапазон, так как оно хорошо переносится при дозах у мышей, по меньшей мере до 225 мг/кг.

Иллюстративный пример 11. Режим дозирования.

Соединение (1) вводили мышам с опухолью в соответствии с одним из следующих режимов дозирования с применением 7-дневного рецидивирующего цикла:

- 1) день 1: 200 мг/кг перорально;
- 2) день 1/день 4: 100 мг/кг на дозу перорально;
- 3) день 1/день 2: 100 мг/кг на дозу перорально или
- 4) день 1: 2 дозы, разделенные на 6 ч 100 мг/кг на дозу перорально.

Оценивали и сравнивали эффективность режимов дозирования.

Иллюстративный пример 12. Определение цели соединения (1).

Определяли целевой спектр соединения (1) в клеточной линии карциномы толстой кишки человека HCT116.

Кратко, соединение (33) (ONC911) иммобилизовали при различных плотностях иммобилизации до гранул сефарозы. Для анализа количественной масс-спектрометрией клетки карциномы толстой кишки HCT116 выращивали в средах с различными формами изотопически меченых аминокислот (SILAC - стабильная изотопная маркировка аминокислотами в клеточной культуре). Соответствующие протеомы можно отличить при помощи разности введенных масс. Эксперименты по связыванию выполняли в двух повторах с частичным переключением меток для исключения маркировки артефактов. Связанные белки полностью элюировали из аффинных матриц, разделяли при помощи электрофореза в полиакриламидном геле и подвергали триптическому расщеплению. Восстановленные пептиды анализировали с помощью ЖХ-МС/МС на масс-спектрометре LTQ Orbitrap Velos (Thermo Fisher). Исходные данные, полученные с помощью LC-MS/MS, обрабатывали с помощью MaxQuant для получения количественных данных о количестве белка.

Квантированные белки анализировали на обогащение белков по сравнению с контрольной матрицей и конкуренцией связанного белка с помощью инкубации с соединением (1). Такой характер связывания и смещения можно ожидать от конкретного целевого белка.

Результаты.

Во-первых, клетки HCT116 культивировали и метаболически маркировали с помощью SILAC. Достигали эффективного кодирования с помощью SILAC с показателями регистрации изотопных вариантов

аргинина и лизина, превышающими 95%. Для последующих экспериментов готовили соответствующие клетки. Экстракты клеток получали с помощью лизиса, опосредованного моющим средством. Кроме того, оставшиеся ядра клеток экстрагировали с помощью лизиса в присутствии 400 мМ NaCl, для включения ядерных белков. Цитозольные и ядерные экстракты объединяли.

Связывающее соединение (33) (ONC911) иммобилизовали с помощью его аминогрупп до гранул сефарозы. Получали гранулы с четырьмя различными плотностями иммобилизации 6, 3, 1 и 0,3 мМ. Эти матрицы использовались для обогащения белков из экстрактов НСТ116 и для исследования смещения связанных белков с помощью 50 мкМ соединения (1).

Всего на гранулах сефарозы было ~3600 белков. Удельное обогащение белков с помощью иммобилизованного соединения (33) (ONC911) наблюдали для всех плотностей связи и репликаторов.

Количество целевых кандидатов увеличилось с плотностью иммобилизации. В табл. 3 приведены целевые кандидаты соединения (1). При наивысшей плотности связи (6 мМ) обогащение с помощью аффинной матрицы и последовательного смещения над двумя репликами соединением (1) наблюдали для 14 белков. При плотностях связи, составляющей 3 мМ, идентифицировали два потенциальных целевых кандидата, оба из которых были разделены с высокой плотностью связи. При более низких плотностях связи (1 и 0,3 мМ) два и один белок последовательно вели себя как цели.

Кроме того, несколько белков показали обогащение аффинной матрицей и смещение с помощью соединения (1), но смещение наблюдали только в одной из двух реплик на плотность связи. Такие белки обозначаются как "ОК (с выбросом)" в табл. 3.

Таким образом, иммобилизованное соединение (33) (ONC911), по-видимому, функционально и способно специфически обогащать белки из клеточного лизата. Кроме того, наблюдали отчетливую конкуренцию с 50 мкМ соединения (1).

Таблица 3

## Краткое описание идентифицированных целевых кандидатов

Идент. Uniprot	Названия белков	Названия генов	Классификация мишеней 0,3 мМ	Классификация мишеней 1 мМ	Классификация мишеней 3 мМ	Классификация мишеней 6 мМ
Q7Z739	Семейство белков 3, содержащих YTH-домен	YTHDF3	ОК (с выбросом)	ОК (с выбросом)	ОК	ОК
P35637	РНК-связывающий белок FUS	FUS	ОК (с выбросом)		ОК	ОК
P52597	Гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин F	HNRNPF		ОК (с выбросом)	ОК (с выбросом)	ОК
Q96D17	U5 малоядерный рибонуклеопротеин 40 кДа белок	SNRNP40	ОК (с выбросом)		ОК (с выбросом)	ОК
P08621	U1 малоядерный рибонуклеопротеин 70 кДа	SNRNP70			ОК (с выбросом)	ОК
Q9NZR1	Тропомодулин-2	TMOD2				ОК
Q01082	Бета-цепь спектрина, незритроцитарный 1	SPTBN1				ОК
Q9Y5A9	Семейство белков 2, содержащих YTH-домен	YTHDF2				ОК
Q13813	Бета-цепь Спектрина, незритроцитарный 1	SPTAN1				ОК
A1L390	Член 3 семейства G, содержащих плекстрин-гомологичный домен	ELEKHG3				ОК
P09234	U1 малоядерный рибонуклеопротеин C	SNRPC				ОК
Q.86XK2	только F-бок белок 11	FBXO11				ОК
015427	Транспортер 4 монокарбосилата	SLC16A3				ОК
P09012	U1 малоядерный рибонуклеопротеин A	SNRPA				ОК
Q9Y520	Белок PRRC2C	PRRC2C	ОК (с выбросом)	ОК		
Q9GZ81	ДНК-направленная РНК-полимераза I субъединица RPA49	POLR1E		ОК		
P61962	DDB1- и CUL4-ассоциированный фактор 7	DCAF7	ОК			

043172	U4/U6 малоядерный рибонуклеопротеин Fgr4	PRPF4	OK (с выбросом)	OK (с выбросом)	OK (с выбросом)	OK (с выбросом)
P62314	Малоядерный рибонуклеопротеин Sm D1	SNRPD1			OK (с выбросом)	OK (с выбросом)
0,13523	Гомолог серин/треонин-протеинкиназы PRP4	PRPF4B			OK (с выбросом)	OK (с выбросом)
P52701	Белок для репарации ошибочно спаренных ДНК Msh6	MSH6				OK (с выбросом)
Q02880	ДНК топоизомераза 2-альфа	TOP2B				OK (с выбросом)
P11388	Инозин-5-монофосфатдегидрогеназа 2	TOP2A				OK (с выбросом)
P12268	Muscleblind-подобный белок 1	IMPDH2				OK (с выбросом)
Q9NR56	Богатый глутаматом белок 1, содержащий повторы WD	MBNL1				OK (с выбросом)
Q9BQ67	U2 малоядерный рибонуклеопротеин B	GRWD1				OK (с выбросом)
P08579	Митотический интерактор и субстрат PLK1	SNRPB2				OK (с выбросом)
Q81VT2	Фактор 30, относящийся к выживанию моторных нейронов	MISP				OK (с выбросом)
075940	Десмоплакин	SMNDC1				OK (с выбросом)
P15924	Белок, подобный 2, связанный с убиквитином	DSP				OK (с выбросом)
Q14157	Белок 1, содержащий повторы WD	WDR1				OK (с выбросом)
075083	Гликогенфосфоорилаза, печеночная форма	PYGL				OK (с выбросом)
P06737						OK (с выбросом)

Идентификатор согласно Uniprot: лучший идентификатор Uniprot;

название белка: название белка согласно Uniprot;

классификация мишени: оценка соответствующего белка при указанной плотности связи соединения ONC216;

"OK" означает, что соответствующий белок последовательно обогащался и конкурировал в течение 2 независимых повторных экспериментов;

"OK (с выбросом)" указывает на обогащение аффинной матрицей и смещение с помощью соединения (1), но смещение наблюдали только в одной из двух реплик.

#### Иллюстративный пример 13. Антагонизм GPCR соединения (1).

ONC201 оценивали в целой клетке функциональным анализом активности  $\beta$ -аррестина рецептора, сопряженного с G-белком (GPCR), который непосредственно измерял активность допаминового рецептора с помощью обнаружения взаимодействия  $\beta$ -аррестина с активированным GPCR, который может служить репортером. Для каждого допаминового рецептора (DRD1, DRD2S, DRD2L, DRD3, DRD4 и DRD5) клеточные линии, сверхэкспрессирующие репортерные конструкции, были расширены из запасов морозильной камеры. Клетки высевали в общем объеме 20 мкл в 384-луночные микропланшеты с белыми стенками и инкубировали при 37°C перед анализом с антагонистом с последующим введением агониста при концентрации EC<sub>80</sub>. Промежуточный раствор образцов проводили для получения 5× образцов в буфере для анализа. К клеткам добавляли 3,5 мкл 5× образца и инкубировали при 37°C или комнатной температуре в течение 30 мин. Концентрация носителя составляла 1%. К клеткам добавляли 5 мкл 6× агониста EC<sub>80</sub> в буфере для анализа и инкубировали при 37°C или комнатной температуре в течение 90 или 180 мин перед анализом. % антагонизма рассчитывали по следующей формуле:

$$\% \text{ антагонизма} = 100\% \times (1 - (\text{среднее значение RLU анализируемого образца} - \text{среднее значение RLU контроля носителя}) / (\text{среднее значение RLU контроля EC}_{80} - \text{среднее значение RLU контроля носителя}))$$

Иллюстративный пример 14. Оценка взаимодействия соединения (1) с белком Efflux и белком транспортера.

Способность ONC201 вмешиваться в активность белка транспортера оценивали для определения режимов дозирования ONC201 в комбинации с субстратами на белках-переносчиках. Время или уровень дозы ONC201 в комбинации с другим терапевтическим агентом можно изменить на основе этих результатов анализа. Белки транспортеры включают транспортеры растворенных веществ (SLC) OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT1, OCT2, MATE1 и MATE2-f.

Способность ONC201 вмешиваться в белки выведения оценивали для определения способности ONC201 ингибировать способность этих белков выводить низкомолекулярные субстраты. Ингибирование указанных белков выведения может повысить эффективность субстратов белка выведения, объединив их с ONC201 для увеличения его внутриклеточных концентраций или для изменения его биораспределения. Белки выведения включают MDR1 и BCRP.

Взаимодействие ONC201 с транспортером MDR1 и BCRP человека исследовали *in vitro* с использованием MDR1 и BCRP сверхэкспрессирующей почки собак Madin-Darby (MDCKII-MDR1 и MDCKII-BCRP) и родительских клеток (MDCKII). Двухнаправленную проницаемость соответствующих маркерных субстратов в монослоях MDCKII-MDR1 и -BCRP и MDCKII проводили для того, чтобы выяснить, является ли ONC201 ингибитором для MDR1 и BCRP. Дигоксин и празозин использовали в качестве маркерных субстратов для MDR1 и BCRP соответственно.

Результаты исследования ингибирования приведены в табл. 4 ниже. ONC201 является ингибитором MDR1 и BCRP при 200 мкмоль. Комбинация ONC201 с субстратами MDR1 или BCRP может повысить эффективность субстрата за счет увеличения внутриклеточных концентраций субстрата или изменения его биораспределения.

Таблица 4

Транспортер (Маркерный субстрат)	Ингибитор	Наблюдаемая проницаемость маркерного субстрата ( $10^{-6}$ см/с) в соответствующем системе анализе транспортера		Коэффициент выведения	% ингибирования (Коэффициент выведения)
		A-B	B-A		
MDR1 (Дигоксин)	отсутствует	1,61	25,3	15,72	0,0
	200 мкМ ONC201	4,69	11,16	2,38	90,6
	10 мкМ Валсподар (PC)	4,31	6,36	1,48	96,8
BCRP (Празозин)	отсутствует	2,37	71,37	30,10	0,0
	200 мкМ ONC201	9,54	60,53	6,34	81,6
	1 мкМ Кол134 (PC)	24,70	34,31	1,39	98,7

A-B - апикально-базолатеральный; B-A - базолатерально-апикальный; PC - положительный контроль.

Пример 15. Оценка ингибирующего потенциала соединения (1) для ферментов P450.

Оценивали потенциал ONC201 индуцирования ферментов цитохрома P450 (CYP) человека с учетом трех основных индуцибельных ферментов, метаболизирующих лекарственное средство, т.е. CYP 1A2, 2B6 и 3A4, с применением криоконсервируемых пластинчатых человеческих гепатоцитов.

Результаты экспериментального ингибирования CYP ONC201 приведены в табл. 5 ниже. ONC201 не индуцировал P450 до эффекта, который составлял  $\geq 20\%$  положительных контролей в этом анализе. Поэтому его можно применять в сочетании с другими препаратами без изменения активности ферментов CYP.

Таблица 5

Индукция мРНК CYP в криоконсервированных гепатоцитах человека различными методами обработки

CYP	Донор	Кратность (Fold <sup>a</sup> ) индукции мРНК с различными лечениями				
		ONC201 2 мкМ	ONC201 20 мкМ	ONC201 200 мкМ	NC <sup>b</sup>	PC <sup>c</sup>
1A2	CDP	1,56	0,21	0,03	1,16	28,71
	NHI	2,85	0,50	0,18	1,31	35,53
	EJW	1,91	0,26	0,02	1,34	31,06
2B6	CDP	1,46	1,01	1,41	1,16	8,56
	NHI	3,69	2,56	1,81	1,37	14,38
	EJW	2,46	1,39	0,34	1,27	8,98
3A4	CDP	2,09	3,13	1,27	1,03	44,18
	NHI	3,79	2,91	0,84	1,37	62,38
	EJW	3,39	8,42	0,51	0,93	85,90

Значения кратности индукции CYP мРНК рассчитывали с применением стандартного метода  $\Delta\Delta C_T$  с 18S-геном в качестве эталонного гена и экспрессии целевого гена (CYP) гепатоцитов, обработанных с помощью контроля носителя в качестве базовой линии;

<sup>b</sup>NC - отрицательный контроль - флумазенил (25 мкМ) использовали в качестве обработки отрицательного контроля;

<sup>c</sup>PC - положительный контроль - омепразол (50 мкМ), фенобарбитал (750 мкМ) и рифампин (25 мкМ) использовали в качестве обработки положительного контроля для CYP 1A2, 2B6 и 3A4 соответственно.

Данные рассчитывали в трех повторностях.

Ингибирующие потенциалы ONC201 против семи (7) цитохромов P450 (CYP) человека, то есть CYP1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 и 3A4, исследованы *in vitro* в собранных микросомах печени человека (HLM) с применением 8 реакций специфического маркера субстрата CYP изоформ. Они представляли собой CYP1A2 опосредованное O-деэтилирование фенацетина, CYP2B6 опосредованное гидроксילирование бупропиона, CYP2C8 опосредованное N-деэтилирование амодиахина, CYP2C9 опосредованное 4'-гидроксילирование диклофенака, CYP2C19 опосредованное 4'-гидроксילирование S-мефенитоина, CYP2D6 опосредованное 1'-гидроксילирование буфуралола, CYP3A4 опосредованное 1'-гидроксילирование мидазолама и гидроксילирование 6 $\beta$ -тестостерона.

ONC201 ингибировал изоферменты CYP (CYP 1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 и 3A4) с величинами IC<sub>50</sub> от 34,9 до 428,6 мкМ (в 4-48 раз выше C<sub>max</sub> 9 мкМ; в 40-480 раз выше средней концентрации в плазме в течение 24 ч 0,9 мкМ) и ингибирование существенно не зависело от времени (см. табл. 6). Эти результаты показывают, что ONC201 можно вводить с большинством других лекарственных средств без проблем с безопасностью, связанных с взаимодействием лекарственных средств.

Таблица 6

CYP	Субстрат маркера (Конс.)	Реакция, катализируемая изоформой	Прямое ингибирование IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (мкМ)	Ингибирование, зависящее от времени IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (мкМ)
1A2	Фенацетин (50 мкМ)	O-деэтилирование	428,6	>500 <sup>b</sup>
2B6	Бупропион (50 мкМ)	Гидроксילирование	51,3	97,7
2C8	Амодиахин (2 мкМ)	N-деэтилирование	34,9	31,4
2C9	Диклофенак (5 мкМ)	4'-гидроксילирование	103,2	107,3
2C19	S-мефенитоин (20 мкМ)	4'-гидроксילирование	85,3	82,8
2D6	Буфуралол (10 мкМ)	1'-гидроксילирование	82,7	174,4
3A4	Мидазолам (2,5 мкМ)	1'-гидроксילирование	73,3	85,8
3A4	Тестостерон (50 мкМ)	6 $\beta$ -гидроксילирование	49,3	24,0

Значения IC<sub>50</sub> для ONC201 определяли путем подгонки нормированных данных к сигмоидальной модели нелинейной регрессии ингибирования с применением GRAPHPAD PRISM®;

<sup>b</sup> >500 - нет ингибирования >50% в пределах диапазона концентраций (1,5-500 мкМ).

Пример 16. Исследования на людях перорального ONC201 у пациентов с солидными опухолями, трудно поддающимися лечению.

ONC201 индуцирует апоптоз в опухолевых, но не в нормальных клетках, в дозах, которые вызывают высокий уровень гибели клеток у раковых клеток человека. Профиль безопасности ONC201 в исследованиях безопасности GLP у крыс и собак соответствовал предпочтительной цитотоксичностью ONC201 в опухоли по сравнению с нормальными клетками *in vitro*. Таким образом, профили ONC201 *in vitro* и *in vivo* указывают на широкое терапевтическое окно, которое очень желательно для лечения рака. График, составляющий каждые 21 дня, выбирали для клинических исследований на основании доклинических результатов, которые указывали на устойчивое прогрессирующее заболевание (PD) в опухолях и после первоначальных предварительных экспериментов, предполагающих, что более частая доза существенно не повышала эффективность *in vivo*.

Основываясь на убедительном профиле эффективности и безопасности ONC201 и также новом взаимодействии сигнальных путей, важных для многих видов рака, было проведено клиническое введение ONC201 пациентам с распространенными раковыми заболеваниями. Первичной целью этого исследования "впервые на человеке", исследованием в I стадии, было определение рекомендуемой для II стадии дозы вводимого перорально (RP2D) ONC201 пациентам с распространенным раком, а также проведение оценки безопасности и переносимости лекарственного средства. Вторичные цели включали оценки фармакокинетики, фармакодинамики и предварительной противоопухолевой активности ONC201.

Кратко, указанная стадия I являлась открытым исследованием, было обработано 10 пациентов при повышении дозы с гистологически подтвержденными распространенными солидными опухолями. Еще 10 пациентов были добавлены на стадии продолжающегося расширения для повышения безопасности. Пациенты получали ONC201 перорально каждые 3 недели в дозах от 125 до 625 мг с использованием дизайна ускоренного определения дозы.

Указанный RP2D определяли как 625 мг, которые достигали C<sub>max</sub> 1,5-7,5 мг/мл (~3,9-19,4 мМ). Концентрации в плазме на уровне насыщения при 375 мг позволили предположить, что увеличение дозы выше 625 мг не было оправданным. Побочных эффектов >1 степени, связанных с лекарственным средством, не возникло. Во время стадии увеличения дозы среднее число циклов (21 день) составило 3,1. Стадия расширения с 10 пациентами подтвердила безопасность ONC201 на RP2D. ФК-анализ выявил период полувыведения, составляющий 9,6 ч и AUC, составляющий 25 ч·мкг/л. Наблюдали длительную индук-

цию сыворотки кератина, расщепленного каспазой, и индукцию TRAIL. У 8 из 10 пациентов заболевание было стабильным, а у одного пациента с аденокарциномой предстательной железы - пролонгированно стабильным; все они оставались на исследовании в течение 27 недель. Еще у одного пациента с раком эндометрия наблюдался смешанный ответ.

ONC201 чрезвычайно хорошо переносился, показал благоприятный ФК профиль с насыщаемым поглощением микромолярных концентраций в плазме и проявлял признаки клинической активности при пероральном введении 625 мг раз в 3 недели.

Пациенты и способы (иллюстративные примеры).

Этика.

Исследование проводили в Robert Wood Johnson University Hospital/Rutgers Cancer Institute штата Нью-Джерси (CINJ) в соответствии с Хельсинкской декларацией и Международной конференцией по гармонизации надлежащей клинической практики и были одобрены соответствующими регулирующими комитетами и Институциональным ревизионным советом по вопросам этики CINJ. Пациенты предоставили письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Обследуемая группа пациентов.

Пациенты в возрасте 18 лет и старше с распространенными солидными опухолями, у которых не было стандартного лечения или которые были резистентны к стандартным способам лечения, имели статус общего состояния онкологического больного по шкале ECOG  $\geq 1$ , и оцениваемые заболевания по критериям RECIST 1.1 попадали под необходимые условия. Если пациенты получали лучевую терапию, у них должно было быть одно измеримое поражение вне облученного района. Пациенты должны были завершить все предыдущие цитотоксические химиотерапии по меньшей мере за 4 недели, алкилирующие агенты по меньшей мере 6 за неделю, молекулярно-направленные агенты по меньшей мере за 28 дней и лучевую терапию по меньшей мере за 14 дней до первой дозы. Все предшествующие побочные эффекты степени  $\leq 2$ , связанные с лечением, должны были быть устранены, за исключением случаев облысения и невропатии. Пациенты должны были проявлять нормальную функцию костного мозга и органов, определяемую по следующим параметрам: абсолютное количество нейтрофилов  $\geq 1500$ /мкл; тромбоцитов  $\geq 100000$ /мкл; гемоглобин  $\geq 9,0$  мг/дл без переливания в 2 предшествующие недели; общий билирубин в нормальном диапазоне (для пациентов с метастазами в печени, билирубин в сыворотке  $\leq 1,5 \times \text{ULN}$ ); AST(SGOT)/ALT(SGPT)  $\leq 2,5 \times$  верхний предел нормы; и измеренный или оцененный клиренс креатинина  $\geq 40$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> для пациентов с уровнем креатинина выше нормы. Критерии исключения включали симптоматические метастазы мозга или бессимптомные метастазы мозга, которые лечили стероидами, предшествующее лечение бевацизумабом, предшествующие аллергические реакции на соединения, подобные ONC201, неконтролируемые интеркуррентные болезни, комбинированную ретровирусную терапию для ВИЧ, активное сердечное заболевание/историю сердечной дисфункции, инсульт или судороги в последние 3 месяца, ухудшение гастроинтестинальной функции, которое может изменить поглощение ONC201, беременность и лечение с помощью колониестимулирующего гемопоэтического фактора роста  $\leq 2$  за недели до начала лечения.

Дизайн исследования и оценка токсичности.

Этот проект представлял собой открытую стадию I повышения дозы моноагента ONC201 у пациентов с распространенными трудно поддающимися лечению опухолями, которые исчерпали или отказались от стандартных вариантов лечения по соответствующим показаниям. Капсулы (125 мг) ONC201 были предоставлены компанией Oncoseutics Inc (Philadelphia, PA, США). ONC201 вводили перорально один раз в каждый 21-дневный цикл с использованием дизайна с ускоренным повышением дозы. Начальная пероральная доза составляла 125 мг (10% от уровня не наблюдаемого побочного эффекта у крыс и собак). Исследование проводили с использованием дизайна ускоренного повышения дозы у пациента, при этом было запланировано прекратить в случае наблюдения у любого пациента побочного явления класса  $\geq 2$ , которое по меньшей мере могло быть связано с ONC201. В этом случае применяли традиционный дизайн повышения дозы 3+3. Повышение дозы можно было продолжать после того, как ранее дозированная когорта завершила один цикл лечения и для них были выполнены критерии для перехода к следующему уровню дозы. Для оценки безопасности для включения в исследование на каждый последующий уровень дозы требовалось, чтобы все пациенты, включенные в исследование с предыдущим уровнем дозы, завершили дозировку 1 цикла и им была проведена оценка через 21 день. Уровни дозы начинали от 125 до 250, 375, 500 мг и, наконец, до 625 мг.

После определения RP2D начинали стадию увеличения вплоть до 22 пациентов, для включения в исследование дополнительных пациентов на RP2D для повышения надежности данных по безопасности, полученных в ходе исследования.

Все виды токсичности оценивали на основе Общей терминологии критериев побочных явлений, 4 версия (англ. Common Terminology Criteria for Adverse events, version 4). Дозолимитирующую токсичность определяли как побочные эффекты, связанные с лекарственным средством, или ненормальный лабораторный результат, который произошел в первом цикле лечения и который соответствовал любому из следующих критериев:  $\geq$  негематологическая токсичность 3 степени;  $\geq$  тошнота, рвота или диарея 3 сте-

пени, которая сохраняется в течение  $>72$  ч, несмотря на оптимальную противорвотную или противодиарейную терапию; AST/ALT 3-4 степени в сочетании с повышением в билирубине 2 степени; продолжительная нейтропения 4 степени=7 дней; нейтропения 4 степени и повышенная температура  $>38,5^{\circ}\text{C}$ ; нейтропения 3 степени с инфекцией  $>3$  степени; тромбоцитопения любой степени, если она связана с клинически значимым кровотечением; тромбоцитопения 4 степени; или анемия 4 степени; оценивали как не связанные с болезнью, прогрессированием заболевания, интеркуррентным заболеванием или сопутствующими препаратами; и определялись исследователями как "возможно связанные", "вероятно связанные" или "определенно связанные" с введением ONC201.

Оценки безопасности.

Оценки безопасности, включая полный анализ крови, химию сыворотки и токсичность, оценивали на исходном уровне, затем еженедельно в течение первых 2 циклов и затем каждые 3 недели. Мониторинг электрокардиографии проводили непосредственно перед введением ONC201, затем через 15 мин, 1 и 2 ч после введения препарата. Побочные эффекты оценивали с использованием СТСАЕ версии 4.0. Ответ опухоли оценивали с использованием критериев оценки ответа солидных опухолей (RECIST от англ. Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) каждые 2 цикла.

Фармакокинетические анализы.

Образцы плазмы на ФК собирали на исходном уровне, через 30 мин, 2, 4, 6, 24, 48 и 168 ч после первой дозы ONC201 и до доз перед лечением в циклах 2-6. ФК анализировали с помощью ЖХ-МС/МС с использованием проверенного метода GLP для определения ONC201 в плазме человека. Анализ ФК проводили с использованием PHOENIX® WINNONLIN® версии 6.3 (PHARSIGHT®, Сент-Луис, Миссури, США).

Статистический анализ.

Описательную статистику использовали для анализа данных о безопасности и ответах опухоли.

Фармакодинамический анализ.

Образцы крови для ФД отбирали через 6 ч, 2, 3, 8 и 15 дней после введения ONC201 для цикла 1 и перед дозой в день введения лекарственного средства для циклов 2 и 3. Уровень сыворотки расщепленного цитокератина 18 (сСК18) оценивали с использованием анализа M30, и уровень сыворотки общего цитокератина 18 (СК18) оценивали с использованием анализа M65 (Perviva A.B., Швеция). Анализ других маркеров, специфичных для опухоли, также оценивали по общепринятому стандарту для лечения.

Чувствительность типа опухоли *in vitro*.

Активность ONC201 *in vitro* оценивали в 1020 генетически аннотированных клеточных линиях, полученных из коллекции Genomic of Drug Sensitivity in Cancer (<http://www.cancerrxgene.org>). Значения  $IC_{50}$  определяли с помощью анализов жизнеспособности клеток через 72 ч после обработки, как указано выше. Оцененные значения  $IC_{50}$  усредняли по нескольким клеточным линиям для каждого типа опухоли. Типы опухолей разделяли на три группы, которые представляли собой терцили средних значений  $IC_{50}$ . Эти группы названы "высокими", "низкими" и "средними" в табл. 11 на основе классификации их терциля в спектре чувствительности ONC201.

Результаты.

Характеристики пациента.

Во время стадии повышения дозы в это исследование были включены 10 пациентов, подлежащих оценке. Характеристики пациентов приведены в табл. 7. После завершения стадии повышения дозы в исследование были включены дополнительные 10 пациентов (табл. 8).

Таблица 7  
 Демографические данные пациентов и опыт безопасности с ONC201,  
 вводимым каждые три недели в стадии повышения дозы

Пациент №	Тип опухоли	Возраст	Пол	Масса (кг)	ONC201 (мг)	Побочные эффекты	
		(годы)				1 степень	2-4 степень
1	Немелкоклеточный рак легких	80	Ф	47,3	125	Повышенная температура (возможно связанная)	0
2	Аденокарцинома аппендицита	47	М	77,8	250	0	0
3	Рак матки	72	Ф	48	375	0	0
4	Почечный рак	62	М	123	500	0	0
5	Рак молочной железы	55	Ф	87	625	0	0
6	Аденокарцинома простаты	69	М	92,4	625	0	0
7	Мелкоклеточный рак легких	70	М	55	625	0	0
8	Аденокарцинома толстой кишки	71	М	73,5	625	0	0
9	Веретеноклеточная саркома	74	Ф	95,2	625	0	0
10	Яичники	68	Ф	61	625	0	0
	Средн.	69,5		75,7			

Таблица 8  
 Демография пациентов и опыт безопасности в стадии  
 увеличения ONC201 RP2D (625 мг каждые три недели)

Пациент №	Тип опухоли	Возраст	Пол	Масса (кг)	Номер доз	Побочные эффекты	
		(годы)				1 степень	2-4 степень
11	Рак матки	67	Ф	72,7	5*	0	0
12	Рак матки	56	Ф	47,7	5*	0	0
13	Рак яичников	64	Ф	49,3	2	Рвота (возможно связанная)	0
14	Рак желчного пузыря	75	Ф	60,6	4*	0	0
15	Десмопластическая мелкоклеточная опухоль (DSRCT)	26	М	49,3	2	0	0
16	Рак толстой кишки	48	М	84,5	2	0	0
17	Аденокарцинома простаты	69	М	82,2	3*	0	0
18	Рак яичников	56	Ф	62,7	2	0	0
19	Аденокарцинома простаты	67	М	118,2	3*	0	0
20	Рак матки	60	Ф	82,7	2*	0	0
	Средн.	62		67,7	3		

\*означает, что пациент оставался на учете.

Способ повышения дозы, определение RP2D и безопасность.

Когорты доз приведены в табл. 9. Наибольшая доза достигала 625 мг и была определена как RP2D. Единственным побочным эффектом на стадии повышения дозы, который, возможно, был связан с ONC201, была низкая степень повышения температуры у одного пациента. Один пациент, включенный в исследование когорты с верхней дозой, был заменен из-за быстрого прогрессирования заболевания в цикле 1.

Единственным побочным эффектом среди 10 пациентов, включенных в стадию увеличения, который, возможно, был связан с ONC201, была рвота у одного пациента. Оба этих побочных явления были 1 степени и были быстро устранены. Лабораторные исследования и физические проверки не выявили никаких связанных с лекарственными средствами аномалий. Аналогично, сердечно-сосудистые оценки не выявили эффектов, связанных с лекарственными средствами.

Таблица 9

Когорты повышения дозы и увеличения,  
дозированные ONC201 каждые 3 недели

Когорта	Доза ONC201 (мг)	Количество пациентов
1	125	1
2	250	1
3	375	1
4	500	1
5	625	6
Увеличение	625	10
Итого		20

#### Фармакокинетика.

Плазму, собранную в последовательные моменты времени, использовали для анализа системных уровней воздействия ONC201 у пациентов (фиг. 5). Параметры ФК определяли для всех пациентов и суммировали для когорты с верхней дозой (табл. 10). Повышение дозы исследовали на когортах из одиночных пациентов, при этом системное воздействие ONC201, определяемое по AUC и  $C_{max}$ , выходило на уровень насыщения при дозе 375 мг (фиг. 6). Для когорты верхней дозы среднее значение  $C_{max}$  составляло 3312 (SD 2133) нг/мл, что происходило в среднем через 1,8 ч после введения. Среднее значение  $V_z$  составляло 381 (SD 164) L, что соответствовало большому объему распределения. Среднее значение AUC составило 26,3 (SD 10,8) ч·мкг/мл, и среднее значение CL/F составляло 27,19 (SD 10,95) л/ч. Среднее значение  $t_{1/2}$  составляло 9,62 (SD 1,76) ч.

Таблица 10

Средние фармакокинетические параметры ONC201, определенные  
у пациентов, получающих 625 мг ONC201 каждые три недели

	$C_{max}$	$T_{max}$	$T_{lag}$	$AUC_{last}$	$\lambda_z$	$t_{1/2}$	AUC	$V_z/F$	CL/F
	(нг/мл)	(ч)	(ч)	(ч· нг/л)	(ч <sup>-1</sup> )	(ч)	(ч· нг/мл)	(л)	(л/ч)
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Среднее значение	3312	1,79	0,05	25515	0,074	9,62	26344	381	27,19
SD	2133	1,30	0,12	10677	0,013	1,76	10763	164	10,95
Мин.	1530	0,37	0,00	13490	0,055	7,71	13868	156	14,03
Средн.	2725	1,91	0,00	24265	0,072	9,60	25620	404	24,83
Макс.	7470	3,95	0,30	43830	0,090	12,5	44555	616	45,07
CV%	64,4	72,4	244,9	41,8	17,4	18,3	40,9	42,9	40,3
Geo. Среднее значение	2894	1,34	.	23777	0,073	9,49	24601	348	25,41
Geo. CV%	58,0	113,5	.	42,9	18,0	18,0	42,4	52,9	42,4

Обычно CL/F наблюдали как изменяющуюся, но устойчивую величину во всех группах доз. Не было никаких очевидных взаимосвязей между CL/F лекарственного средства и полом или возрастом пациента. Наблюдалась заметная небольшая корреляция с массой тела пациента и площадью поверхности тела (BSA). Наблюдалось общее увеличение CL/F при увеличении массы и BSA. Хотя наблюдали небольшой восходящий тренд, сильной корреляции между CL/F и  $CL_{CR}$  не наблюдали.

Более сильные корреляции наблюдали для кажущегося объема распределения ( $V_Z$ ) и массы пациента и BSA. При увеличении массы пациента наблюдали выраженное увеличение  $V_Z$ . Более чем 2-кратное увеличение  $V_Z$  прогнозировали из этой тенденции при увеличении массы с 50 до 100 кг. Аналогичную тенденцию наблюдали между  $V_Z$  и BSA. Влияние массы пациента дополнительно изучали на нормализованных по дозе параметрах воздействия. Тенденции снижения воздействия с увеличением массы наблюдали на графиках  $C_{max}/\text{доза}$  и  $AUC/\text{доза}$  в зависимости от массы пациента. Нормализованные по массе значения CL/F были нанесены на график в зависимости от дозы, демонстрируя тренд, схожий с ненормализованными значениями CL/F, но со значительно меньшей вариабельностью у пациентов в группе с дозой 625 мг.

Клинические ответы пациентов.

В табл. 11 приведены результаты для 10 пациентов, включенных в стадию повышения дозы. Из 10 прошедших оценку пациентов, завершивших не менее 2 циклов, 4 пациента закончили по меньшей мере 4 цикла и 1 пациент получил 8 циклов и остался на лечении. В среднем пациенты получили 3,1 дозы ONC201. Среди 10 пациентов, включенных в стадию увеличения, 6 пациентов остались на лечении.

Таблица 11

Клинические ответы и фармакодинамика в стадии повышения дозы

Пациент №	Тип опухоли	ONC201		Лучший общий ответ *	Время на исследовании (в неделях)	Индукция M30 (>50%)	Чувствительность типа опухоли in vitro
		Стабильность (мг)	Номер доз				
1	Немелкоклеточный рак легких	125	4	SD	12	Нет	Средн.
2	Рак аппендикса	250	4	SD	12	Нет	Нет данных
3	Рак матки	375	2	MR	6	Да	Средн.
4	Почечный рак	500	2	SD	6	Нет	Средн.
5	Рак молочной железы	625	2	SD	6	Да	Низкая
6	Аденокарцинома простаты	625	9	SD	27	Да	Высокая
7	Мелкоклеточный рак легких	625	2	SD	6	Да	Высокая
8	Аденокарцинома толстой кишки	625	4	SD	12	Да	Высокая
9	Веретеноклеточная саркома	625	2	SD	6	Нет	Низкая
10	Яичники	625	1	PD	3	Нет	Средн.

\* - MR - смешанный ответ, SD - стабильное заболевание, PD - прогрессирующее заболевание.

Категоризация чувствительности типа опухоли in vitro описана в разделе способы.

Клинические и лабораторные результаты показали, что лекарственное средство обладало биологической активностью у пациентов, получавших лечение. Пациент № 3, 72-летний пациент с прогрессирующим мезонефрическим раком эндометрия, имел смешанный ответ с уменьшением нескольких уплотнений на >30% вместе с развитием новых уплотнений. Пациент № 4, 62-летний мужчина с раком почек и метастазами в кости с изнурительной болью в ключице, испытывал облегчение ключичной боли. Пациент № 6, 69-летний пациент с аденокарциномой предстательной железы, испытал пролонгированное стабильное заболевание и находился на исследовании в течение 27 недель. Пациент № 8, 71-летний пациент с раком толстой кишки, имел стабильное заболевание в течение 12 недель с 4 дозами ONC201.

Фармакодинамика.

Учитывая гетерогенность типов опухолей у включенных в исследование пациентов, для однотипного анализа всех образцов пациентов не было широко применяемого биомаркера. В частности, анализ M30 сыворотки позволяет обнаруживать расщепленную каспазой форму цитокератина-18, которая возникает во время апоптоза, которая полезна при гетерогенном исследовании солидных опухолей, поскольку большинство солидных опухолей экспрессируют цитокератин-18. Сэндвич M30 ELISA широко

применяли в клинических испытаниях в качестве биомаркера гибели клеток, вызванной различными химиотерапевтическими агентами для лечения рака в спектре различных солидных опухолей. В дополнение к анализу M30 сыворотки для определения апоптоза опухоли от некроза применяли исследование с помощью сэндвича M65 ELISA, который также применяли в клинических исследованиях для выявления увеличения общего цитокератина 18, что может возникать при некрозе опухолей и прогрессировании заболевания.

Как и ожидалось, у пациента с быстрым развитием заболевания, который находился на исследовании в течение одного цикла, было обнаружено увеличение в анализе M65, но не в анализе M30. В отличие от этого для пациента, который остался на исследовании в течение 8 циклов, было обнаружено увеличение в анализе M30, но не в анализе M65. Четыре пациента, включенных в фазу повышения дозы настоящего исследования, имели индукцию в анализе M30 после однократной дозы ONC201, чаще всего на 21 день после введения (фиг. 7). Для того, чтобы попытаться больше понять значимость наблюдаемой гетерогенной индукции M30, чувствительности *in vitro* типов опухолей, определенных в большом наборе клеточных линий из программы Genomic of Drug Sensitivity in Cancer (GDSC), сравнивали с результатами исследования пациентов (фиг. 8). Примечательно, что пациенты, которые испытали индукцию в M30, также являлись 3 пациентами с типами опухолей, которые проявляли высокую чувствительность *in vitro* к ONC201 (табл. 11).

Учитывая расположенную по ходу транскрипции индукцию TRAIL ONC201 у доклинических моделей, уровень TRAIL в сыворотке также определяли количественно с использованием анализов ELISA. Половина пациентов продемонстрировала умеренное (~20%) увеличение TRAIL в сыворотке, которая в основном достигала максимума в течение первых 24 ч после введения лекарственного средства.

#### Обсуждение.

Этот пример является первым исследованием ONC201 - экспериментальной терапии рака - у людей. Основная цель исследования состояла в определении RP2D при пероральном введении ONC201 каждые 3 недели пациентам с солидными опухолями, которые исчерпали все варианты лечения. Как и предполагалось на основе положительного доклинического профиля безопасности ONC201, при микромолярных концентрациях в плазме, которые эффективны в доклинических моделях у любого пациента, не наблюдали токсичности >1 степени, связанной с лекарственным средством. Благодаря превосходному профилю безопасности указанного лекарственного средства настоящее исследование позволило перейти к следующим уровням дозы, не требуя дополнительного вовлечения пациентов в исследование, и оно было завершено без отступления от дизайна с ускоренным повышением дозы. Это исследование определило, что 625 мг, вводимые один раз каждые 3 недели в качестве RP2D, не вызывают токсичности, а также установило тот факт, что эта доза достигала терапевтической концентрации в плазме. Этот RP2D превышал порог насыщения, наблюдаемый при 375 мг, и, таким образом, не требовал корректировки для площади поверхности тела для последовательно достижимых целевых уровней в крови. RP2D был подтвержден с точки зрения безопасности в фазе увеличения при помощи дополнительных 10 пациентов, подлежавших оценке.

Фармакокинетический профиль ONC201 указывал на значительную абсорбцию препарата при пероральном введении, которое являлось быстрым, на что указывает среднее значение, составляющее 1,8 ч. Важно отметить, что параметры ФК, такие как  $C_{max}$  и AUC в когорте с верхней дозой, обработанные на RP2D, превышали параметры ФК, связанные максимальной дозой, не вызывающей обнаруживаемого вредного воздействия на здоровье человека (NOAEL) в надлежащей лабораторной практике. Наблюдение показало, что системное воздействие ONC201, уровень насыщения при 2 дозах ниже RP2D, указывает на насыщение поглощения. Поскольку насыщение абсорбции происходит в дозе, которая дает терапевтические концентрации в плазме, которые, по-видимому, хорошо переносятся, это может действовать как признак безопасности. Эти наблюдения подтверждают решение о прекращении дальнейшего повышения дозы ONC201 за пределы RP2D, обеспечивая при этом зону безопасности вокруг целевой дозы.

Учитывая, что основная конечная точка исследования основывалась на клинической безопасности в группе высокогетерогенных пациентов с агрессивными раковыми заболеваниями, следует отметить, что некоторые пациенты показали некоторые свидетельства клинического результата. К ним относятся: пациент с устойчивым к лечению мезонефрическим раком эндометрия, у которого был смешанный ответ, 2 пациента, у которых было облегчение симптомов, связанных с местами проявления опухоли, и 2 пациента (аденокарциномы предстательной железы и толстой кишки) со стабильным заболеванием в течение >2 месяцев. В этом клиническом исследовании лечение прекращалось после прогрессирования заболевания с использованием критериев RECIST, которые задают увеличение размера опухоли на 20%. Признаки противоопухолевой активности и отсутствие каких-либо значимых побочных эффектов в этом исследовании указывают на то, что ONC201 может предложить клинический результат без типичных токсических воздействий, которым обычно подвергаются пациенты при противораковых терапиях.

Подобно доклиническим данным, измерения PD с помощью анализа M30 показали, что эффекты ONC201 были стабильны во времени у нескольких пациентов. Индукцию TRAIL в сыворотке отметили у 2 пациентов; однако этот анализ был ограничен обнаружением растворимого в сыворотке TRAIL, поскольку биопсия не была доступна. ФК профиль ONC201 вместе с его устойчивыми эффектами PD дает

возможность для комбинированных схем со ступенчатым введением, которые минимизируют риски взаимодействия лекарственное средство-лекарственное средство при сохранении синергетической биологической активности. Синергические взаимодействия между ONC201 и одобренными терапиями рака было определено с таксанами, бевацизумабом, бортезомибом и сорафенибом.

В заключение авторы настоящего изобретения отмечают, что настоящее исследование демонстрирует, что ONC201 очень хорошо переносится при RP2D в 625 мг и проявляет признаки биологической активности у пациентов с солидными опухолями в поздних стадиях.

Специалистам в данной области техники должно быть понятно, что в представленные и описанные выше иллюстративные варианты реализации могут быть внесены изменения без отклонения от общей идеи настоящего изобретения. Таким образом, следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается представленными и описанными иллюстративными вариантами реализации, но оно охватывает модификации в рамках настоящего изобретения, определенных формулой изобретения. Например, конкретные признаки иллюстративных вариантов реализации могут являться или не являться частью заявленного изобретения, и признаки описанных вариантов реализации могут быть объединены. Если в настоящем описании не указано конкретно, то неопределенная и определенная форма единственного числа не ограничивается одним элементом, а вместо этого должна быть прочитана как означающая "по меньшей мере один".

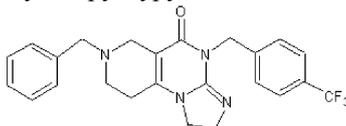
Следует понимать, что, по меньшей мере, некоторые из чертежей и описаний настоящего изобретения были упрощены для того, чтобы сфокусировать внимание на элементах, необходимых для четкого понимания настоящего изобретения, при устранении, в целях наглядности, других элементов, которые по оценкам специалистов в данной области техники также могут составлять часть настоящего изобретения. Однако поскольку такие элементы хорошо известны в данной области техники и поскольку они не обязательно способствуют лучшему пониманию изобретения, описание таких элементов не приведено в настоящем документе.

Кроме того, в той степени, в которой способ не зависит от конкретного порядка выполнения стадий, описанных в настоящем документе, указанный конкретный порядок стадий не должен рассматриваться как ограничивающий объем притязаний. Пункты формулы изобретения, относящиеся к способу согласно настоящему изобретению, не ограничиваются выполнением его стадий в описанном порядке, и специалист в данной области техники может легко понять, что указанные стадии могут изменяться и тем не менее оставаться в рамках настоящего изобретения.

Все ссылки, включая публикации, заявки на патент и патенты, приведенные в настоящем описании, включены в настоящее описание посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая ссылка была индивидуально и конкретно включена посредством ссылки и была полностью приведена в настоящем документе.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее следующую структуру:



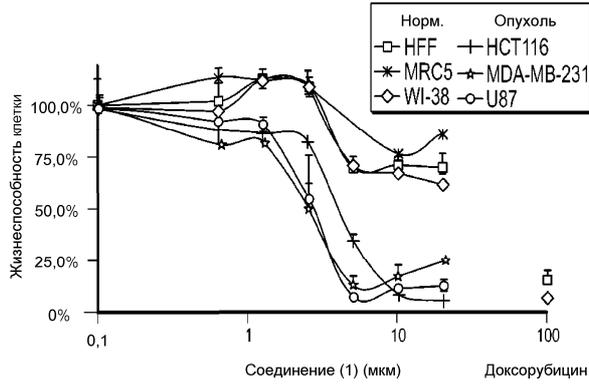
или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Фармацевтическая композиция для лечения рака, содержащая фармацевтически приемлемое количество соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли и фармацевтически приемлемый носитель.

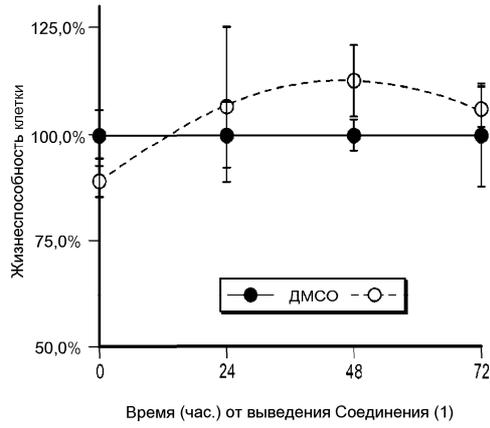
3. Фармацевтическая композиция по п.2, где соль представляет собой дисоль.

4. Фармацевтическая композиция по п.3, где дисоль представляет собой гидрохлоридную дисоль.

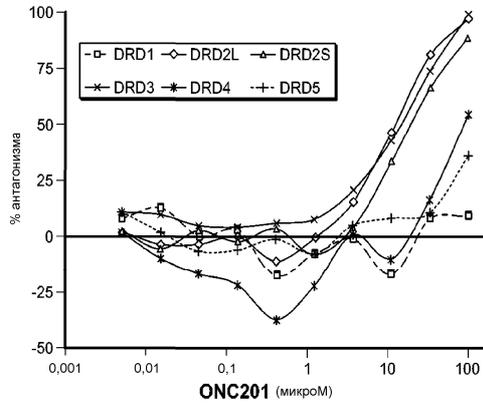
5. Способ лечения рака, включающий введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, фармацевтически приемлемого количества соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли.



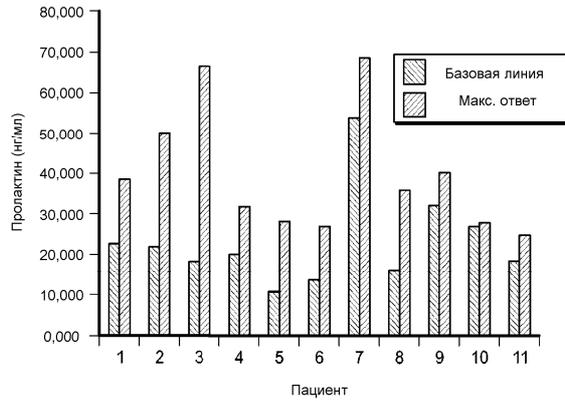
Фиг. 1



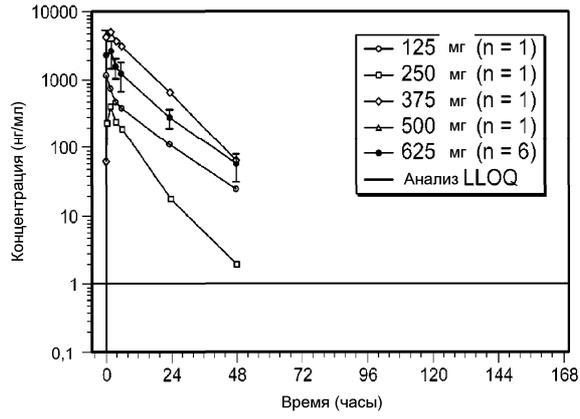
Фиг. 2



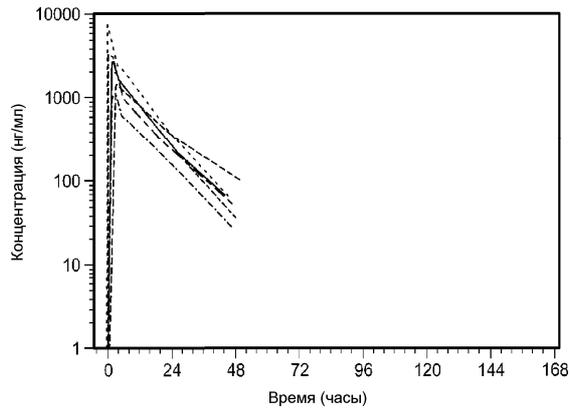
Фиг. 3



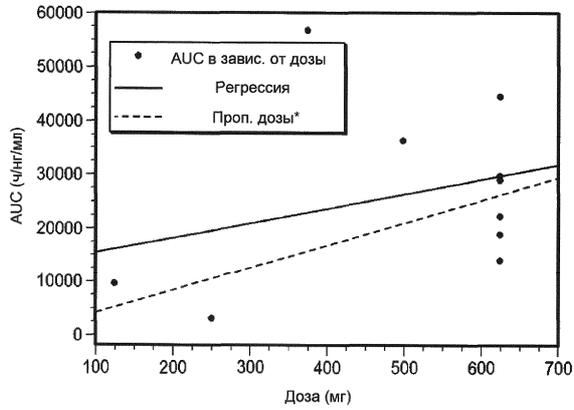
Фиг. 4



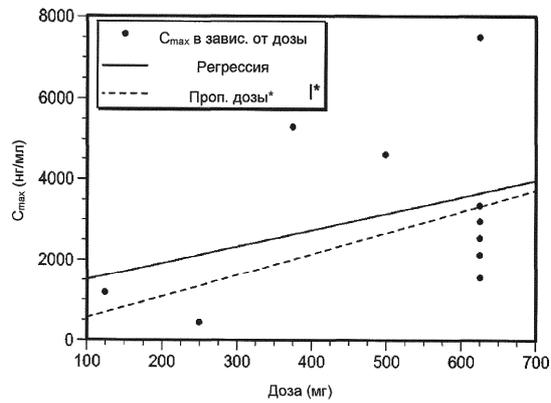
Фиг. 5А



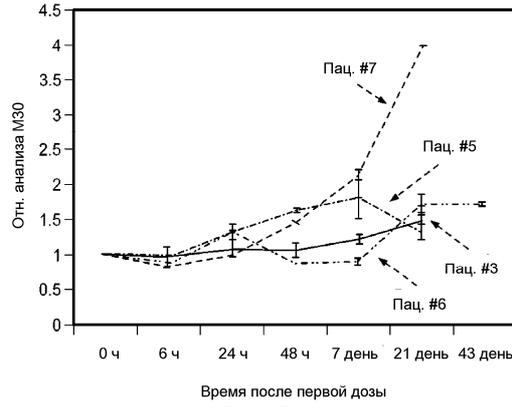
Фиг. 5В



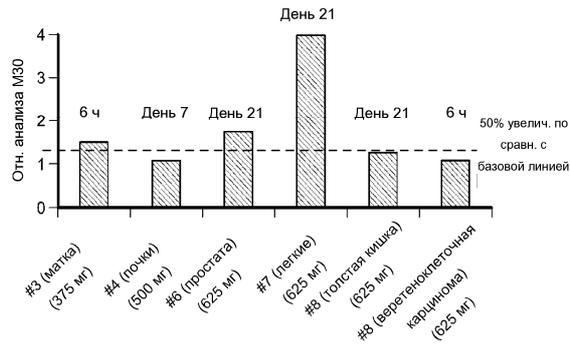
Фиг. 6А



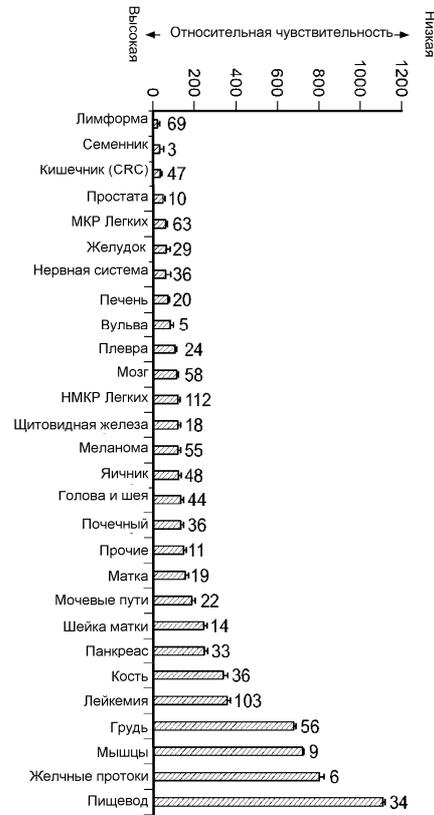
Фиг. 6В



Фиг. 7А



Фиг. 7В



Фиг. 8

