

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **037638**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2021.04.23**

(51) Int. Cl. *A61P 35/00* (2006.01)  
*A61K 31/165* (2006.01)

(21) Номер заявки  
**201690446**

(22) Дата подачи заявки  
**2014.08.22**

**(54) ЛЕЧЕНИЕ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ**

(31) **61/869,039; 61/870,747**

(32) **2013.08.22; 2013.08.27**

(33) **US**

(43) **2016.06.30**

(86) **PCT/US2014/052216**

(87) **WO 2015/027125 2015.02.26**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**ВАНДА ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ ИНК.  
(US)**

(72) Изобретатель:  
**Полимеропулос Михаэль Х.,  
Лайкамил Луис Уилльям, Лэйвдэн  
Кристиан (US)**

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

(56) MOREAUX J. ET AL.: "Gene expression-based prediction of myeloma cell sensitivity to histone deacetylase inhibitors", BRITISH JOURNAL OF CANCER, vol. 109, no. 3, 18 July 2013 (2013-07-18), pages 676-685, XP055085883, ISSN: 0007-0920, DOI: 10.1038/bjc.2013.392 abstract page 681

HELLER G. ET AL.: "Genome-Wide Transcriptional Response to 5-Aza-2'-Deoxycytidine and Trichostatin A in Multiple Myeloma Cells", CANCER RESEARCH, vol. 68, no. 1, 1 January 2008 (2008-01-01), pages 44-54, XP055051386, ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2531 page 681

EP-A2-0196415

NARA MIHO ET AL.: "Bortezomib Reduces the Tumorigenicity of Multiple Myeloma via Downregulation of Upregulated Targets in Clonogenic Side Population Cells", PLOS ONE, vol. 8, no. 3, 4 March 2013 (2013-03-04), page e56954, XP055146616, DOI: 10.1371/journal.pone.0056954 cited in the application abstract figure 4

SHAUGHNESSY J.: "Amplification and overexpression of CKS1B at chromosome band 1q21 is associated with reduced levels of p27<sup>Kip1</sup> and an aggressive clinical course in multiple myeloma", HEMATOLOGY, HARWOOD ACADEMIC PUBLISHERS, LUXEMBURG, LX, vol. 10, no. Suppl. 1, 1 September 2005 (2005-09-01), pages 117-126, XP009128866, ISSN: 1024-5332, DOI: 10.1080/10245330512331390140 cited in the application abstract

(57) Изобретение предоставляет способ лечения множественной миеломы (ММ) у субъекта, включающий определение из биологического образца, полученного из организма человека, уровня экспрессии одного или нескольких генов у субъекта, при этом один или несколько генов выбраны из группы, состоящей из CCNB1, AURKB, CDC2, BIRC5, KIF11, KIF2C, TOP2A, ASPM, CKS1B и WEE1; и в случае если уровень экспрессии такого одного или нескольких генов свидетельствует о чрезмерной экспрессии, введение субъекту эффективного количества трихостатина А (TSA). Изобретение обеспечивает ингибирование экспрессии CCNB1, AURKB, CDC2, BIRC5, KIF11, KIF2C, TOP2A, ASPM, CKS1B и WEE1 при лечении ММ.

**B1****037638****037638****B1**

### Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет находящихся на одновременном рассмотрении предварительных патентных заявок США №№ 61869039, поданной 22 августа 2013 г., и 61870747, поданной 27 августа 2013 г., каждая из которых включена в настоящую заявку.

### Уровень техники

Множественная миелома (ММ), которую иногда называют плазмоклеточной миеломой, представляет собой мультифокальный плазмоклеточный рак костной системы, обычно поражающий пожилых людей. Большинство индивидуумов имеют клинические проявления при диагностике, при этом диагноз типично устанавливают на основании одного или нескольких анализов, таких как электрофорез сывороточных белков, бессывороточный анализ легкой цепи каппа/лямбда, электрофорез белков мочи (99% пациентов с ММ демонстрируют повышенные уровни одного из классов иммуноглобулинов (Ig) в крови и/или легких цепей в моче), исследование костного мозга или рентгеновское исследование. Хотя ММ, как правило, отвечает на химиотерапию, обычно имеют место рецидивы, поскольку такое лечение не воздействует на раковые стволовые клетки.

Naga et al. недавно идентифицировали ряд генов-"кандидатов" для таргетирования ММ опухоль-иницирующей субпопуляции (SP) клеток, т.е. раковых стволовых клеток. Они включают ряд генов, кодирующих белки, ассоциированные с клеточным циклом и митозом, которые, как было обнаружено, все имеют повышающую регуляцию в ММ клетках. Они включают циклин В1 (CCNB1), цикл 2 клеточного деления (CDC2), бакуловирусный IAP повтор-содержащий 5 (BIRC5), аномальный гомолог веретена, ассоциированный с микроцефалией (ASPM), топоизомеразу (ДНК) II альфа 170 кДа (TOP2A), aurora киназу В (AURKB), член кинезинового семейства 11 (KIF11) и член кинезинового семейства 2с (KIF2C).

Аналогично этому Shaughnessy et al. сообщают о 70-генном профиле высокого риска для множественной миеломы. Два из генов, имеющих повышающую регуляцию, в этом профиле высокого риска представляют собой регуляторную субъединицу 1В CDC28 протеинкиназы (CKS1B) и WEE1 гомолог (*S. pombe*) (WEE1).

### Сущность изобретения

Один вариант осуществления изобретения предоставляет способ лечения множественной миеломы (ММ) у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества трихостатина А (TSA).

В другом варианте осуществления изобретение предоставляет способ лечения множественной миеломы (ММ) у субъекта, включающий определение из биологического образца, полученного из организма человека, уровня экспрессии по меньшей мере одного гена, выбранного из группы, состоящей из CCNB1, AURKB, CDC2, BIRC5, KIF11, KIF2C, TOP2A, ASPM, CKS1B и WEE1; и в случае если уровень экспрессии по меньшей мере одного гена свидетельствует о чрезмерной экспрессии, введение субъекту эффективного количества трихостатина А (TSA).

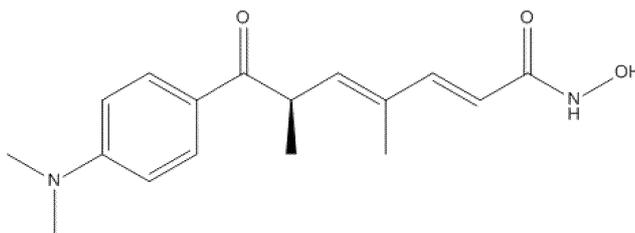
Еще в одном варианте осуществления изобретение предоставляет способ лечения множественной миеломы (ММ) у субъекта, включающий установление диагноза или установленный диагноз ММ у субъекта и введение субъекту эффективного количества трихостатина А (TSA).

Еще в одном варианте осуществления изобретение предоставляет фармацевтическую композицию, включающую трихостатин А (TSA) в качестве единственного или основного ингибитора CCNB1, AURKB, CDC2, BIRC5, KIF11, KIF2C, TOP2A, ASPM, CKS1B или WEE1 и фармацевтически приемлемый эксципиент или носитель.

В других вариантах осуществления изобретения лечение при помощи TSA комбинируют с одним или несколькими другими лечениями множественной миеломы. Такие другие лечения могут включать, например, использование низкомолекулярных ингибиторов.

### Подробное описание изобретения

Трихостатин А (TSA или 7-[4-(диметиламино)фенил]-N-гидрокси-4,6-диметил-7-оксогепта-2,4-диенамид) представляет собой противогрибковый антибиотик. Структура TSA показана в формуле I ниже.



Формула I

Авторы настоящего изобретения, к удивлению, обнаружили, что TSA, хотя он был ранее известен как ингибитор гистондеацетилазы класса I и II (HDAC), также способен ингибировать экспрессию CCNB1, AURKB, CDC2, BIRC5, KIF11, KIF2C, TOP2A, ASPM, CKS1B и WEE1. Соответственно, TSA можно использовать в качестве основного или единственного ингибитора одного или нескольких таких

генов для лечения ММ.

Клеточную линию пигментного эпителия сетчатки человека обрабатывали трихостатином или носителем в течение 24 ч и генерировали экспрессию генов для 22238 наборов зондов, охватывающих 12490 генов, с использованием устройства Affymetrix. Эффект трихостатина А на экспрессию CCNB1, AURKB, CDC2, BIRC5, KIF11, KIF2C, TOP2A, ASPM, CKS1B и WEE1 показан ниже в таблице и свидетельствует о существенной понижающей регуляции экспрессии каждого гена.

Идентификационный номер	Зонд	Положение	Кратное изменение экспрессии $\Delta$	Ген
10005542	219918_s_at	22283	-69.97232079	ASPM
10005533	219918_s_at	22282	-54.61735261	ASPM
10005532	219918_s_at	22261	-23.24977266	ASPM
10005542	209464_at	22190	-11.52858083	AURKB
10005533	209464_at	22185	-11.04347695	AURKB
10005542	202095_s_at	22270	-24.2000252	BIRC5
10005533	202095_s_at	22256	-23.02258123	BIRC5
10005533	202094_at	22251	-20.74385736	BIRC5
10005532	202095_s_at	22252	-19.95557418	BIRC5
10005542	202094_at	22227	-14.71770993	BIRC5
10005532	202094_at	22219	-14.42912247	BIRC5
10005533	214710_s_at	22267	-26.45555632	CCNB1
10005532	214710_s_at	22267	-26.32053821	CCNB1
10005542	214710_s_at	22251	-20.15506664	CCNB1
10005532	203213_at	22270	-27.14720991	CDC2
10005533	203213_at	22260	-23.81235655	CDC2
10005542	203213_at	22253	-20.26528442	CDC2
10005533	210559_s_at	22199	-12.07146825	CDC2
10005532	210559_s_at	22192	-11.92448867	CDC2
10005533	203214_x_at	22194	-11.8262682	CDC2
10005542	204444_at	22213	-13.12379506	KIF11
10005532	204444_at	22187	-11.4579544	KIF11
10005533	204444_at	22184	-10.96422696	KIF11
10005533	209408_at	22250	-19.89427497	KIF2C
10005532	209408_at	22248	-19.35105571	KIF2C
10005542	209408_at	22224	-14.47328923	KIF2C
10005532	201292_at	22274	-31.9462153	TOP2A
10005533	201291_s_at	22270	-28.21627346	TOP2A
10005532	201897_s_at	22279	-39.94584911	CKS1B
10005533	201897_s_at	22279	-52.93016044	CKS1B
10005542	201897_s_at	22268	-23.90194858	CKS1B
10005532	212533_at	22237	-17.0758281	WEE1
10005533	212533_at	22248	-19.46663938	WEE1
10005542	212533_at	22265	-23.63054187	WEE1

Эти результаты подтверждают применимость TSA для лечения ММ. Например, можно лечить ММ у субъекта путем введения субъекту эффективного количества TSA, где эффективное количество представляет собой количество, достаточное для ингибирования экспрессии одного или нескольких из CCNB1, AURKB, CDC2, BIRC5, KIF11, KIF2C, TOP2A, ASPM, CKS1B и WEE1 у субъекта. Такое количество также может быть достаточным для ингибирования HDAC активности у субъекта. В некоторых вариантах осуществления изобретения эффективное количество находится в диапазоне от приблизительно 0,01 до приблизительно 100 мг/кг/день, например от приблизительно 0,1 до приблизительно 10

мг/кг/день или от приблизительно 0,5 до приблизительно 5 мг/кг/день.

В некоторых вариантах осуществления лечение субъекта также может включать определение из биологического образца, полученного из организма человека, уровня экспрессии одного или нескольких из CCNB1, AURKB, CDC2, BIRC5, KIF11, KIF2C, TOP2A, ASPM, CKS1B или WEE1. Такое определение может включать любой известный или впоследствии разработанный способ или процедуру, включая, например, количественные взаимодействия антиген-антитело, использование меченых нуклеотидных зондов и т.д.

В других вариантах осуществления изобретения лечение субъекта может включать установление диагноза или установленный диагноз ММ у субъекта до введения TSA субъекту. Такая диагностика может включать одну или несколько процедур или способов для установления такого диагноза, включая, например, электрофорез сывороточных белков, бессывороточный анализ легкой цепи каппа/лямбда, электрофорез белков мочи, исследование костного мозга или рентгеновское исследование.

TSA можно вводить субъекту, подлежащему лечению, в форме фармацевтической композиции. Фармацевтические композиции, которые можно использовать в соответствии с различными вариантами осуществления изобретения, включают терапевтически эффективное количество TSA или активного метаболита TSA или его фармацевтически приемлемой соли или другой формы (например, сольвата) вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми эксципиентами или носителями. Фраза "фармацевтическая композиция" относится к композиции, подходящей для введения при применении в медицине. Должно быть понятно, что определение подходящих дозированных форм, размеров доз и путей введения для конкретного пациента находятся в рамках среднего уровня компетентности в фармацевтике и медицине.

Введение может быть пероральным, но также можно использовать другие пути введения, например парентеральный, назальный, буккальный, чрескожный, сублингвальный, внутримышечный, внутривенный, ректальный, вагинальный и т.п. Твердые дозированные формы для перорального введения включают капсулы, таблетки, пилюли, порошки и гранулы. В таких твердых дозированных формах соединение смешано по меньшей мере с одним инертным фармацевтически приемлемым эксципиентом, таким как (a) наполнители или создающие объем вещества, например крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и кремниевая кислота, (b) связующие, например карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и аравийская камедь, (c) увлажнители, например глицерин, (d) разрыхлители, например агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые комплексные силикаты и карбонат натрия, (e) замедляющие растворение вещества, например парафин, (f) ускорители абсорбции, например четвертичные аммониевые соединения, (g) смачивающие вещества, например цетиловый спирт и глицерин моностеарат, (h) адсорбенты, например каолин и бентонит, и (i) смазывающие вещества, например тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия, или смеси таких веществ. В случае капсул, таблеток и пилюль дозированные формы также могут включать буферные вещества. Твердые дозированные формы, такие как таблетки, драже, капсулы, пилюли и гранулы, также могут быть получены с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия и другие, хорошо известные в данной области покрытия. Твердые дозированные формы также могут содержать замутнители и также могут иметь такую композицию, чтобы они могли высвобождать активное соединение или соединения в определенной части кишечного тракта замедленным образом. Примеры композиций, которые можно использовать для заключения в них лекарственного средства, включают полимерные вещества и воски. Активные соединения также могут быть в микроинкапсулированной форме, если это необходимо, с использованием одного или нескольких из указанных выше эксципиентов. Такие твердые дозированные формы, как правило, могут содержать от 1 до 95% (мас./мас.) активного соединения. В некоторых вариантах осуществления активное соединение составляет от 5 до 70% (мас./мас.).

Твердые композиции для перорального введения могут быть сформулированы в стандартную дозированную форму, где каждая доза содержит от приблизительно 0,1 до приблизительно 5000 мг активного ингредиента. Термин "стандартная дозированная форма" относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве стандартных доз для человека и других млекопитающих, при этом каждая такая единица содержит предварительно определенное количество активного ингредиента, рассчитанное для обеспечения желаемого эффекта в процессе лечения, в ассоциации с необходимым фармацевтическим носителем. TSA может быть сформулирован, например, в стандартную дозированную форму, которая представляет собой капсулу, содержащую 0,1-5000 мг активного ингредиента помимо эксципиентов.

Жидкие дозированные формы для перорального введения включают фармацевтически приемлемые эмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. В дополнение к соединению или композиции жидкие дозированные формы могут содержать инертные разбавители, традиционно используемые в данной области, такие как вода или другие растворители, солюбилизующие вещества и эмульгаторы, например этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, масла, в частности масло семян хлопчатника, масло земляного ореха, масло из зародышей кукурузы, оливковое масло, касторовое масло и кунжутное масло, глицерин, тетрагидрофурфуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот

сорбитана или смеси этих веществ. Помимо таких инертных разбавителей композиция также может включать адъюванты, такие как смачивающие вещества, эмульгаторы и суспендирующие вещества, подсластители, отдушки и ароматизаторы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения TSA предоставляют в жидкой форме, и его вводят субъекту внутривенно. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения TSA предоставляют в виде композиции замедленного или контролируемого высвобождения.

Хотя изобретение было описано в соответствии с конкретными вариантами осуществления, изложенными выше, понятно, что многие альтернативы, модификации и варианты будут очевидны специалистам в данной области, или же предусматриваются как охватываемые настоящим изобретением. Соответственно, варианты осуществления изобретения, описанные выше, предназначены для иллюстрации, а не для ограничения изобретения. Различные изменения могут быть осуществлены без отступления от сути и объема изобретения, определенного в следующей далее формуле изобретения. Все патенты, патентные заявки, научные статьи и другие опубликованные документы, на которые ссылаются в настоящей заявке, включены в настоящую заявку во всей их полноте, что касается сущности раскрываемого в них изобретения.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения множественной миеломы (ММ) у субъекта, включающий определение из биологического образца, полученного из организма человека, уровня экспрессии одного или нескольких генов у субъекта, при этом один или несколько генов выбраны из группы, состоящей из CCNB1, AURKB, CDC2, BIRC5, KIF11, KIF2C, TOP2A, ASPM, CKS1B и WEE1; и в случае если уровень экспрессии такого одного или нескольких генов свидетельствует о чрезмерной экспрессии, введение субъекту эффективного количества трихостатина А (TSA).

2. Способ по п.1, где эффективное количество представляет собой количество, достаточное для снижения экспрессии по меньшей мере одного гена у субъекта, при этом по меньшей мере один ген выбран из группы, состоящей из CCNB1, AURKB, CDC2, BIRC5, KIF11, KIF2C, TOP2A, ASPM, CKS1B и WEE1.

3. Способ по п.2, где эффективное количество представляет собой количество, достаточное для снижения экспрессии любого из или обоих CCNB1 и AURKB.

4. Способ по п.2, где эффективное количество представляет собой количество, достаточное для снижения экспрессии любого из или обоих CKS1B и WEE1.

5. Способ по п.2, где эффективное количество представляет собой количество, достаточное для снижения экспрессии каждого из CCNB1, AURKB, CDC2, BIRC5, KIF11, KIF2C, TOP2A, ASPM, CKS1B и WEE1.

6. Способ по любому предыдущему пункту, где эффективное количество находится в диапазоне от 0,01 до 100 мг/кг/день.

7. Способ по п.6, где эффективное количество находится в диапазоне от 0,1 до 10 мг/кг/день.

8. Способ по п.7, где эффективное количество находится в диапазоне от 0,5 до 5 мг/кг/день.

9. Способ по любому предыдущему пункту, где введение включает пероральное введение.

10. Способ по любому из пп.1-8, где введение включает внутривенное введение.

11. Способ по любому предыдущему пункту, где лечение дополнительно включает установление диагноза или установленный диагноз у субъекта, что включает осуществление или уже осуществленное по меньшей мере одно диагностическое исследование у субъекта, где по меньшей мере одно диагностическое исследование выбрано из группы, состоящей из электрофореза сывороточных белков, бессывороточного анализа легкой цепи каппа/лямбда, электрофореза белков мочи, исследования костного мозга и рентгеновского исследования.

