(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 038323 (13) B1

# (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
**2021.08.10**

(21) Номер заявки
**201692481**

(22) Дата подачи заявки
**2015.05.26**

(51) Int. Cl. ***A61K 45/06*** (2006.01)
***A61K 31/573*** (2006.01)
***A61K 31/4184*** (2006.01)

## (54) КОМБИНАЦИЯ ИЗ ДЕКСАМЕТАЗОНА И EDO-S101 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО РАКА

(31) **1409485.8**
(32) **2014.05.28**
(33) **GB**
(43) **2017.04.28**
(86) **PCT/EP2015/061572**
(87) **WO 2015/181157 2015.12.03**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЭРО-СЕЛТИК С.А. (LU)**

(72) Изобретатель:
**Мерлинг Томас Йорг (CH), Осио Энрике Мария (ES)**

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

(56) P.S. BACHMANN ET AL.: "Epigenetic silencing of BIM in glucocorticoid poor-responsive pediatric acute lymphoblastic leukemia, and its reversal by histone deacetylase inhibition", BLOOD, vol. 116, no. 16, 20 July 2010 (2010-07-20), pages 3013-3022, XP055124426, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2010-05-284968, abstract

JONATHAN L. KAUFMAN ET AL.: "Lenalidomide, Bortezomib, and Dexamethasone (RVD) in Combination with Vorinostat As Front-Line Therapy for Patients with Multiple Myeloma (MM): Results of a Phase 1 Study", BLOOD, vol. 120, no. 21, 16 November 2012 (2012-11-16), page 336, XP055203581, US, ISSN: 0006-4971, the whole document

HARRISON S.J. ET AL.: "High Response Rates with the Combination of Bortezomib, Dexamethasone and the Pan-Histone Deacetylase Inhibitor Romidepsin in Patients with Relapsed or Refractory Multiple Myeloma in a Phase I/II Clinical Trial", BLOOD; ASH ANNUAL MEETING ABSTRACTS, 1 January 2008 (2008-01-01), pages 1-2, XP002664394, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, ISSN: 0006-4971, the whole document

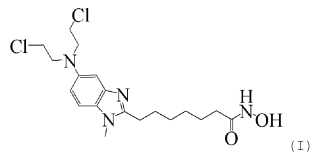
ENRIQUE M. OCIO ET AL.: "Triple combinations of the HDAC inhibitor panobinostat (LBH589) plus dexamethasone with either lenalidomide or bortezomib are highly effective in a multiple myeloma mouse model", BLOOD, vol. 110, no. 11, Part 1, 16 November 2007 (2007-11-16), XP055203715, US, ISSN: 0006-4971, the whole document

DATABASE MEDLINE [Online], US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; September 2013 (2013-09), CHEN LI-PING ET AL.: "[Dexamethasone and vorinostat cooperatively promote differentiation and apoptosis in Kasumi-1 leukemia cells through ubiquitination and degradation of AML1-ETO]", XP002742548, Database accession no. NLM24103869, abstract & CHEN LI-PING ET AL.: "[Dexamethasone and vorinostat cooperatively promote differentiation and apoptosis in Kasumi-1 leukemia cells through ubiquitination and degradation of AML1-ETO]", ZHONGHUA XUE YE XUE ZA ZHI = ZHONGHUA XUEYEXUE ZAZHI, SEP 2013, vol. 34, no. 9, September 2013 (2013-09), pages 741-744, ISSN: 0253-2727

PHILIPPE MOREAU ET AL.: "Phase 1b Dose Escalation Study Of Oral Quisinostat, a Histone Deacetylase Inhibitor (HDACi), In Combination With Velcade (Bortezomib) and Dexamethasone For Patients With Relapsed Multiple Myeloma (MM)", BLOOD, vol. 122, no. 21, 15 November 2013 (2013-11-15), 10 December 2013 (2013-12-10), XP055203585, US, ISSN: 0006-4971, the whole document

WO-A2-2013040286
WO-A1-2013113838

(57) Изобретение относится к терапевтической комбинации, фармацевтической композиции и набору, которые содержат дексаметазон и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль



(I)

для лечения гематологического рака, а также их применению для лечения и способу лечения гематологического рака у пациента, нуждающегося в этом.

038323 B1

038323 B1

## Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к терапевтическим комбинациям и композициям, которые являются пригодными в лечении гематологического рака, таких как множественная миелома, лимфома или лейкоз.

## Уровень техники

Рак является одним из самых угрожающих жизни заболеваний. Рак представляет состояние, при котором клетки в определенной части организма выходят из-под контроля роста. Согласно самым последним данным Американского общества рака установлено, что в 2014 г. в США появится 1,67 млн новых случаев рака. Рак является второй основной причиной смертности в Соединенных Штатах (второй после сердечно-сосудистых заболеваний) и в 2014 г. унесет более чем 585000 жизней. Фактически установлено, что у более 50% всех мужчин и 33% всех женщин, живущих в Соединенных Штатах, развивается некоторый тип рака в течение жизни. Следовательно, рак является серьезным бременем для общественного здравоохранения и требует существенных расходов в Соединенных Штатах. Такие показатели характерны повсеместно для большинства стран по всему миру, хотя типы рака и относительная доля населения, у которого развивается рак, варьируют в зависимости от многих различных факторов, в том числе генетики и рациона питания.

На протяжении десятилетий хирургия, химиотерапия и лучевая терапия были признанными видами лечения различных типов рака. Пациенты обычно получают комбинацию этих методов лечения в зависимости от типа и степени тяжести их заболевания. Но химиотерапия является наиболее важным вариантом лечения онкологических больных, когда хирургическое вмешательство невозможно. Несмотря на то что в некоторых случаях хирургическая операция эффективна в удалении опухолей, расположенных в определенных участках тела, например в молочной железе, толстой кишке и коже, ее нельзя использовать при лечении опухолей, находящихся в других областях, таких как позвоночник, а также при лечении диссеминированных гематологических злокачественных опухолей, в том числе рак крови и кроветворных тканей (например, костного мозга). Они включают множественную миелому, лимфому и лейкоз. Лучевая терапия заключается в воздействии на живую ткань ионизирующей радиации, вызывающей гибель или повреждение облученных клеток. Побочные эффекты от лучевой терапии могут носить острый и проходящий характер, в то время как другие могут быть необратимыми. Химиотерапия приводит к нарушению репликации клеток или клеточного метаболизма. Наиболее часто она используется при лечении рака молочной железы, рака легких и рака яичка. Одной из главных причин неудач в таком лечении рака является развитие лекарственной устойчивости опухолевых клеток, серьезная проблема, которая может привести к рецидиву болезни или даже смерти. Таким образом, необходимы более эффективные методы лечения рака.

Множественная миелома является важной и приобретающей все большее значение проблемой. Это рак, происходящий из плазматических клеток. Нормальные плазматические клетки продуцируют иммуноглобулины, участвующие в борьбе с инфекцией. В миеломе плазматические клетки становятся аномальными, бесконтрольно размножаются и высвобождают только один тип антител - известный как парапротеин - которые не выполняют какой-либо полезной функции. Он имеет тенденцию накапливаться в костном мозге и циркулирует в крови, и также может обнаруживаться в моче. Миелома поражает несколько областей в организме (отсюда название "множественная" миелома), где костный мозг обычно активен у взрослых. Основными формами множественной миеломы (или миеломы, как это также относится) являются активная миелома, плазмоцитома, миеломная болезнь легких цепей и несекреторная миелома. Число новых случаев миеломы в США в 2011 г. составило 6,1 на 100000 мужчин и женщин в год, и выживаемость в процентах за пять лет равнялась 45%. Установлено, что в 2014 г. число новых случаев в США составит более 24000 (1,4% от всех случаев рака), в то время как число летальных исходов в 2014 г. превысит 11000 (1,9% от всех случаев рака).

В WO-A-2010/085377 было показано, что соединение формулы I обладает высокой активностью in vitro в отношении линий клеток множественной миеломы с активностью в пределах в 35-100 раз выше, чем активность, проявляемая бендамустином.

Лейкоз представляет тип рака крови или костного мозга, характеризующийся аномальным повышением количества незрелых лейкоцитов, называемых "бластами". Вместо продукции нормальных, функционирующих лейкоцитов, которые участвуют в борьбе с инфекцией, в организме продуцируется большое количество таких нефункциональных бластов. Лейкоз является широким термином, охватывающим целый ряд заболеваний. В свою очередь, он является компонентом еще более широкой группы заболеваний, поражающих кровь, костный мозг и лимфоидную систему, которые все известны как гематологические новообразования. Наиболее распространенными формами являются острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) и хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), с наличием менее распространенных форм, включающих волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз (T-PLL), лейкоз из больших гранулированных лимфоцитов и Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз. Установлено, что в 2014 г. в Соединенных Штатах число новых случаев составит более 52000 (3,1% от всех новых случаев рака в США) с более чем 24000 случаями летальных исходов (4,1% всех случаев смерти от рака в США). В настоящее время выживаемость в процентах за пять лет составляет 57,2%, этот показатель значительно ниже, чем

для многих других типов рака, с особенно низкой пятилетней выживаемостью пациентов с острым миелоидным лейкозом, составляющей 20%.

Лимфома представляет рак лимфатической системы. Есть два основных типа лимфомы, а именно: лимфома Ходжкина и неходжкинская лимфома.

Неходжкинская лимфома представляет наиболее распространенную форму лимфомы. Лимфатическая система располагается по всему телу, и, следовательно, неходжкинскую лимфому можно найти почти во всех частях организма. У пациентов с неходжкинской лимфомой некоторые из лейкоцитов (лимфоцитов) делятся аномально. У таких лейкоцитов отсутствует какой-либо период покоя, который имеется у нормальных клеток, и они начинают делиться непрерывно, в результате чего их продуцируется слишком много. Они не погибают естественно, как это обычно имеет место. Эти клетки начинают делиться, прежде чем они становятся полностью зрелыми и, следовательно, они не могут бороться с инфекцией, как это делают нормальные лейкоциты. Все аномальные лимфоциты начинают депонироваться в лимфатических узлах или в других органах, таких как костный мозг или селезенка. Затем они могут перерасти в опухоли и начинают вызывать проблемы в лимфоидной системе или органе, где они развиваются. Например, если лимфома появляется в щитовидной железе, то она может повлиять на нормальную выработку гормонов щитовидной железой. Существует много различных типов неходжкинской лимфомы. Их можно классифицировать несколькими различными способами. Один способ ориентирован на тип пораженных клеток. В неходжкинской лимфоме могут поражаться два типа лимфоцитов - В-клетки и Т-клетки. В этом случае лимфомы классифицируются как В-клеточная лимфома или Т-клеточная лимфома. У большинства людей, страдающих неходжкинской лимфомой, имеется В-клеточная лимфома. Т-клеточные лимфомы чаще встречаются у подростков и взрослых людей в молодом возрасте.

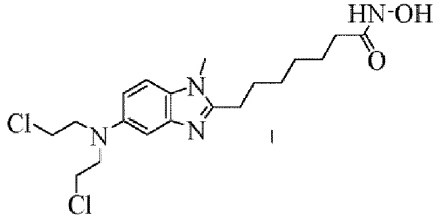
Клетки лимфомы Ходжкина имеют особый вид под микроскопом. Эти клетки называются клетками Рид-Штернберга. Неходжкинская лимфома не имеет клеток Рид-Штернберга. Это важно для врачей для обнаружения различия между клетками лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы, поскольку они являются двумя различными заболеваниями. В лимфоме Ходжкина это клетки в лимфатических узлах, которые становятся злокачественными.

Выживаемость в процентах за 5 лет в 2009 г. для пациентов с неходжкинской лимфомой составила 63%, в то время как выживаемость у пациентов с лимфомой Ходжкина за этот же период составила 83%.

Рак молочной железы представляет рак, который развивается в тканях молочной железы. Наиболее распространенным типом рака молочной железы является протоковый рак, который развивается в эпителиальной выстилке молочных протоков (тонких трубочек, которые несут молоко из долек молочной железы к соску). Другим типом рака молочной железы является дольковый рак, который развивается в дольках (молочных железах) молочной железы. Рак молочной железы можно подразделить на подгруппы, такие как опухоли с низкой экспрессией клаудина, базально-подобные опухоли, рецептор эпидермального фактора роста 2 человека (HER2)-положительные опухоли, люминальные опухоли типа А и люминальные опухоли типа В. Инвазивный рак молочной железы представляет рак молочной железы, который распространяется от того места, где он начал развиваться в грудных протоках или дольках, в окружающие нормальные ткани. Рак молочной железы встречается как у мужчин, так и женщин, хотя, у мужчин рак молочной железы развивается редко. Как установлено, в 2014 г. будет примерно 23300 новых случаев рака молочной железы у женщин и 2400 у мужчин, с 4000 летальных исходов у женщин и чуть более 400 смертельными случаями у мужчин.

Примерно у 15 из каждых 100 женщин с раком молочной железы имеется тройной негативный рак молочной железы, т.е. будучи эстроген-отрицательным, он является прогестерон-отрицательным и HER2-отрицательным. Рецидивирующий тройной негативный рак молочной железы представляет состояние, настоятельно требующее медицинского внимания, за счет своей агрессивной биологии, быстрого развития лекарственной устойчивости и отсутствия молекулярных мишеней. До сих пор химиотерапия остается стандартом для лечения тройного негативного рака молочной железы на поздних стадиях с низким средним уровнем выживаемости в целом.

В WO-A-2010/085377 раскрывается соединение формулы I, приведенной ниже. Это первая в своем классе, двойная функциональная, алкилирующая-HDACi слитая молекула, которая эффективно ингибирует путь HDAC

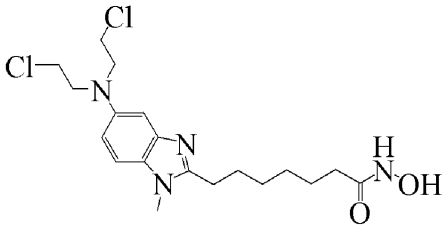



Результаты биологических тестов показали, что соединение формулы I эффективно ингибирует фермент HDAC ($IC_{50}$ для HDAC составляет 9 нМ), и было показано, что оно обладает высокой активностью in vitro в отношении клеточных линий множественной миеломы.

Существует необходимость в более эффективных методах лечения рака, в том числе для лечения рака молочной железы и гематологических злокачественных опухолей, таких как множественная миелома, лимфома или лейкоз. В настоящее время эти патологические состояния поражают многих людей, и основа для долгосрочного прогноза является не очень хорошей для многих из этих состояний.

**Сущность изобретения**

В первом аспекте изобретения обеспечивается терапевтическая комбинация для лечения гематологического рака, содержащая дексаметазон и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль



Заявители изобретения обнаружили, что комбинации соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли и дексаметазона, особенно эффективны в лечении гематологического рака, такого как множественная миелома, лимфома и лейкоз. Они весьма перспективны для действий по решению проблемы поиска более эффективных методов лечения рака. Во втором аспекте настоящего изобретения обеспечивается фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель, и комбинацию по первому аспекту настоящего изобретения.

В третьем аспекте настоящего изобретения обеспечивается набор, включающий комбинацию по первому аспекту настоящего изобретения, и, необязательно, инструкции по лечению пациента.

В четвертом аспекте настоящего изобретения обеспечивается комбинация, композиция или набор по первому, второму или третьему аспекту настоящего изобретения, для применения в лечении гематологического рака.

В пятом аспекте настоящего изобретения обеспечивается способ лечения гематологического рака у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту комбинации, композиции или набора по первому, второму или третьему аспекту настоящего изобретения.

**Краткое описание чертежей**

На фиг. 1 представлен график выживаемости в % in vitro клеток множественной миеломы MM1S в виде % от контроля в зависимости от концентрации различных тестированных соединений через 48 ч инкубации, для отдельных соединений и комбинаций (двойных и тройных);

на фиг. 2 - график выживаемости в % in vitro клеток множественной миеломы MM1S в виде % от контроля в зависимости от концентрации различных тестированных соединений через 72 ч инкубации, для отдельных соединений и комбинаций (двойных и тройных);

на фиг. 3 показан график роста опухолей ($мм^3$) по отношению к количеству дней опыта для различных тестированных соединений у мышей CB17-SCID, которым подкожно инокулировали в правый бок $3\times10^6$ клеток MM1S, для отдельных соединений и в виде комбинаций.

**Подробное описание изобретения**

В изобретении используется ряд общих терминов и выражений, которые следует интерпретировать следующим образом.

"Животное" включает людей, млекопитающих, отличных от человека (например, собак, кошек, кроликов, крупный рогатый скот, лошадей, овец, коз, свиней, оленей и т.п.) и животных, отличных от млекопитающих (например, птиц и тому подобное).

Термин "фармацевтически приемлемые соли" означает соли соединений по настоящему изобретению, которые являются фармацевтически приемлемыми, как это определено выше, и которые обладают требуемой фармакологической активностью. Такие соли включают кислотно-аддитивные соли, образованные неорганическими кислотами или органическими кислотами. Фармацевтически приемлемые соли также включают основно-аддитивные соли, которые могут быть образованы, когда присутствующие кислотные протоны способны взаимодействовать с неорганическими или органическими основаниями. Как правило, такие соли, например, получают взаимодействием свободных кислотных или основных форм этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе или в смеси обоих. Как правило, предпочтительными являются неводные среды, такие как диэтиловый эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил. Примеры кислотно-аддитивных солей включают аддитивные соли минеральных кислот, например, такие как гидрохлорид, гидробромид, гидроиодид, сульфат, бисульфат, сульфамат, нитрат, фосфат, и аддитивные соли органических кислот, например, такие как ацетат, трифторацетат, малеат, фумарат, цитрат, оксалат, сукцинат, тартрат, салицилат, тозилат, лактат, нафталинсульфонат, малат, манделат, метансульфонат и п-толуолсульфонат. Примеры основно-аддитивных солей включают неорганические соли, например, такие как соли натрия, калия, кальция и аммония, и также органические соли щелочных металлов, например,

такие как соли этилендиамина, этаноламина, N,N-диалкиленэтаноламина, триэтаноламина и основных аминокислот.

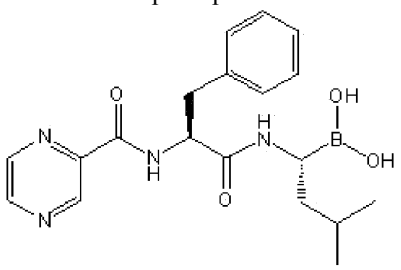
С удивлением было обнаружено, что комбинации соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли и глюкокортикоида, такого как дексаметазон, особенно эффективны в лечении рака, включая гематологические злокачественные опухоли, такие как множественная миелома, лейкоз и лимфома, и рак молочной железы, таким образом, что они являются весьма перспективными для действий, направленных на решение проблемы поиска более эффективных методов лечения рака. Комбинации могут необязательно содержать ингибитор протеасом, такой как карфилзомиб или бортезомиб. Эти дополнительные комбинации также особенно эффективны в лечении рака.

В комбинации по настоящему изобретению фармацевтически приемлемая соль соединения формулы I может предпочтительно представлять гидрохлорид, гидробромид, гидроиодид, сульфат, бисульфат, сульфамат, нитрат, фосфат, цитрат, метансульфонат, трифторацетат, глутамат, глюкуронат, глутарат, малат, малеат, сукцинат, фумарат, тартрат, тозилат, салицилат, лактат, нафталинсульфонат или ацетат, и более предпочтительно ацетат.

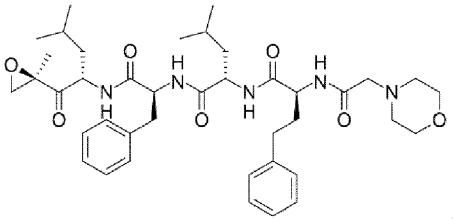
В комбинации по настоящему изобретению глюкокортикоид может, например, быть выбран из группы, состоящей из дексаметазона, флуоцинолона ацетонида и преднизона, из которых предпочтительным является дексаметазон.

Комбинация по настоящему изобретению может дополнительно содержать ингибитор протеасом. Подходящие примеры ингибиторов протеасом для использования в комбинации по настоящему изобретению включают бортезомиб, карфилзомиб, маризомиб, деланзомиб (CEP-18770), опрозомиб (ONX 0912), иксазомиб (MLN-9708) и LU-102. Из них предпочтительными являются бортезомиб, карфилзомиб и LU-102.

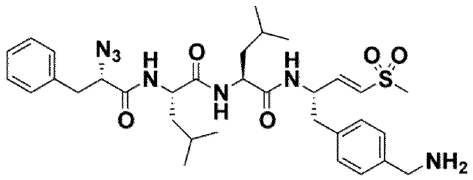
Структурные формулы этих ингибиторов протеасом являются следующими:



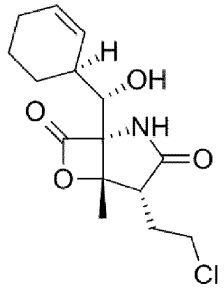
Бортезомиб



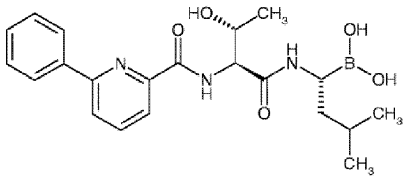
Карфилзомиб



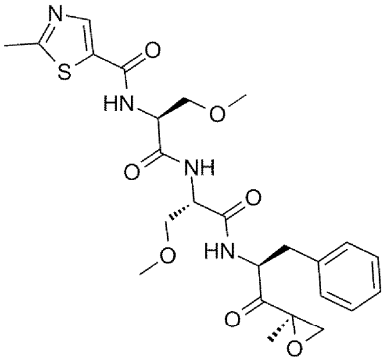
LU-102



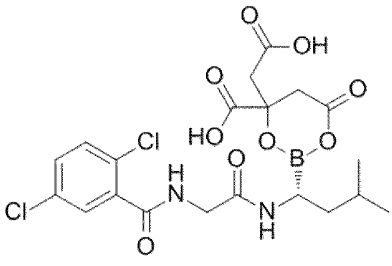
Маризомиб



Деланзомиб



Опрозомиб



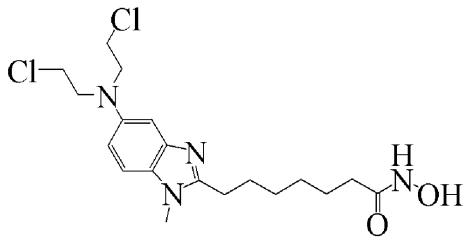
Иксазомиб

В еще одной предпочтительной комбинации по настоящему изобретению содержится соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, глюкокортикоид и необязательно ингибитор протеасом, где указанная комбинация может дополнительно содержать один или более дополнительных фармацевтически активных агентов. Особенно подходящие фармацевтически активные агенты представляют противоопухолевые агенты, имеющие другой механизм действия, чем соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, глюкокортикоид и ингибитор протеасом, например алкилирующие агенты, такие как нитрозомочевины, этиленимины, алкилсульфонаты, гидразины и триазины и препараты на основе платины; растительные алкалоиды, таксаны, алкалоиды барвинка; противоопухолевые

антибиотики, такие как хромомицины, антрациклины, и другие антибиотики, такие как митомицин и блеомицин; антиметаболиты, такие как антагонисты фолиевой кислоты, антагонисты пиримидина, антагонисты пурина и ингибиторы аденозиндезаминазы; ингибиторы топоизомеразы, такие как ингибиторы топоизомеразы I, ингибиторы топоизомеразы II, другие антинеопластики, такие как ингибиторы рибонуклеотидредуктазы, ингибитор адренокортикальных стероидов, антимикротрубочковых агенты и ретиноиды; протеинкиназы; белки теплового шока, поли-ДЦФ (аденозиндифосфат-рибоза)-полимераза (PARP), индуцируемые гипоксией факторы (HIF), протеасома, сигнальные белки Wnt/Hedgehog/Notch, TNF-α, матричная металлопротеиназа, фарнезилтрансфераза, путь апоптоза, гистондеацетилазы (HDAC), гистонацетилтрансферазы (HAT) и метилтрансфераза; гормональные препараты, агент, нарушающий сосудистую сеть, генная терапия, терапия рака на основе RNAi, химиопротекторные агенты, конъюгат антитела, препараты иммунотерапии рака, такие как интерлейкин-2, вакцины против рака или моноклональные антитела; и предпочтительно агенты, повреждающие ДНК, антиметаболиты, ингибиторы топоизомеразы, антимикротрубочковые агенты, ингибиторы EGFR, ингибиторы HER2, ингибиторы VEGFR2, ингибиторы BRAF, ингибиторы Bcr-Abl, ингибиторы PDGFR, ингибиторы ALK, ингибиторы PLK, ингибиторы MET, эпигенетические агенты, ингибиторы HSP90, ингибиторы PARP, ингибиторы CHK, ингибитор ароматазы, антагонист эстрогенных рецепторов, и антитела, направленные против VEGF, HER2, EGFR, CD50, CD20, CD30, CD33 и т.д.

В одном варианте осуществления комбинация по настоящему изобретению соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, глюкокортикоид и, если он присутствует, ингибитор протеасом, адаптированы для введения одновременно, последовательно или раздельно. Предпочтительно соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, глюкокортикоид и, если он присутствует, ингибитор протеасом, адаптированы для введения одновременно.

В одном варианте осуществления комбинации по настоящему изобретению глюкокортикоид представляет собой дексаметазон, и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль представляет



или его ацетатную соль. Данная комбинация может дополнительно содержать ингибитор протеасом, выбранный из бортезомиба, карфилзомиба и LU-102.

В одном варианте осуществления комбинации по настоящему изобретению молярное отношение глюкокортикоида к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в указанной комбинации составляет от 1:500 до 500:1. Предпочтительно молярное отношение глюкокортикоида к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в указанной комбинации составляет от 1:500 до 1:100, более предпочтительно от 1:300 до 1:100 и наиболее предпочтительно от 1:250 до 1:150, например 1:150, 1:200, 1:250 или 1:300.

Один особенно предпочтительный вариант осуществления комбинации по настоящему изобретению включает соединение формулы I или его ацетатную соль и дексаметазон, где молярное отношение дексаметазона к соединению формулы I или его ацетатной соли в указанной комбинации составляет от 1:250 до 1:150, например 1:150, 1:200 или 1:250.

С удивлением было обнаружено, что многие комбинации, включающие глюкокортикоид и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль, представляют синергетические комбинации. Другими словами, эффективность комбинаций была оценена с помощью программного обеспечения Calcusyn (biosoft, Ferguson, MO, США), которое основано на методе Chou Talay (Chou et al., Adv. Enzyme Regul., 22, 27-55 (1984)), с помощью которого вычисляется индекс комбинации (CI) с использованием следующего толкования:

CI>1: антагонистический эффект, CI=1: аддитивный эффект и CI<1: синергический эффект.

Для многих из двойных комбинаций по настоящему изобретению, включающих глюкокортикоид и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль, было установлено, что CI ниже 1, указывая на синергизм.

Еще один вариант осуществления комбинации по настоящему изобретению дополнительно содержит ингибитор протеасом, где молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли и глюкокортикоиду в указанной комбинации, составляет от 1:1000:20 до 1000:1:20. Предпочтительно молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли и глюкокортикоиду в указанной комбинации составляет от 1:1000:10 до 1:100:2. Более предпочтительно молярное отношение ингибитора протеасом к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли и глюкокортикоиду, использованно-

му в указанной комбинации, составляет от 1:1000:5 до 1:200:2 и наиболее предпочтительно от 1:700:4 до 1:400:3, например 1:1000:5, 1:900:5, 1:800:4, 1:700:4, 1:600:4, 1:500:3 или 1:400:3.

Одна особенно предпочтительная комбинация по настоящему изобретению содержит ингибитор протеасом, выбранный из бортезомиба и карфилзомиба, соединение формулы I или его ацетатную соль и дексаметазон, где молярное отношение ингибитора протеасом, выбранного из бортезомиба и карфилзомиба, к соединению формулы I или его ацетатной соли и дексаметазону в указанной комбинации, составляет от 1:700:4 до 1:400:3, например 1:700:4, 1:700:3, 1:600:4, 1:600:3, 1:500:3 или 1:400:3. Еще одна особенно предпочтительная комбинация по первому аспекту настоящего изобретения содержит ингибитор протеасом, выбранный из LU-102, соединение формулы I или его ацетатную соль и дексаметазон, где молярное отношение LU-102 к соединению формулы I или его ацетатной соли и дексаметазону в указанной комбинации составляет от 1:3:4 до 1:0,5:3, например 1:3:4, 1:3:3, 1:2:4, 1:2:3, 1:1:4, 1:1:3 или 1:0,5:3.

Также с удивлением было обнаружено, что многие из тройных комбинаций по настоящему изобретению, содержащие ингибитор протеасом, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и глюкокортикоид, также являются синергетическими комбинациями, т.е. было установлено, что индекс комбинации CI ниже 1.

Фармацевтическая композиция по второму аспекту настоящего изобретения содержит фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель и комбинацию по первому аспекту настоящего изобретения. Предпочтительные композиции по второму аспекту изобретения включают комбинации, которые включают предпочтительные комбинации по настоящему изобретению, как описано и приведено в качестве примера выше. Фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель в фармацевтической композиции по второму аспекту настоящего изобретения может представлять любое подходящее диспергирующее вещество, эксципиент, адъювант или другое вещество, которое функционирует в качестве носителя для активных агентов комбинации по настоящему изобретению и которое не оказывает отрицательного влияния на активные агенты, присутствующие в указанной комбинации. Примеры типичных фармацевтически приемлемых носителей и разбавителей можно найти в монографии "Remington's Pharmaceutical Sciences", E.W. Martin, и они включают воду, солевой раствор, раствор декстрозы, раствор сыворотки, раствор Рингера, полиэтиленгликоль (например, ПЭГ400), поверхностно-активное вещество (например, Cremophor), циклополисахарид (например, гидроксипропил-β-циклодекстрин или сульфобутиловый эфир β-циклодекстринов), полимер, липосому, мицеллу, наносферы и т.д.

В третьем аспекте настоящего изобретения обеспечивается набор, включающий комбинацию по первому аспекту настоящего изобретения, и, необязательно, инструкции по лечению пациента. Как правило, набор может содержать соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль, глюкокортикоид и ингибитор протеасом, вместе с инструкциями по лечению пациента. Каждый активный агент может быть обеспечен в соответствующем контейнере. Набор может дополнительно содержать систему для доставки, например, для соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, глюкокортикоида или ингибитора протеасом, или любой их комбинации.

В инструкциях могут быть предоставлены рекомендации по введению глюкокортикоида, соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли и, если он присутствует, ингибитора протеасом комбинации, одновременно, последовательно или раздельно в соответствии с переменными показателями, такими как конкретное патологическое состояние, подлежащее лечению, тяжесть этого состояния, активность конкретных используемых соединений; конкретная используемая комбинация; возраст, масса тела, общее состояние здоровья, пол и рацион питания пациента; время введения, путь введения и скорость выделения конкретных используемых соединений; продолжительность лечения; лекарственные средства, используемые в сочетании или одновременно с конкретными используемыми соединениями; и подобные факторы, хорошо известные в области медицины.

Предпочтительные наборы по третьему аспекту настоящего изобретения включают наборы, которые содержат предпочтительные комбинации по настоящему изобретению, как описано и приведено в качестве примера выше.

В четвертом аспекте настоящего изобретения обеспечивается комбинация, композиция или набор по первому, второму или третьему аспекту настоящего изобретения для применения в лечении рака.

В пятом аспекте настоящего изобретения обеспечивается способ лечения рака у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту комбинации, композиции или набора по первому, второму или третьему аспекту настоящего изобретения.

Было обнаружено, что комбинации, композиции и наборы по настоящему изобретению обладают высокой активностью in vitro и in vivo против широкого ряда типов опухолевых клеток. Противоопухолевая активность, показанная такими двойными и тройными комбинациями по настоящему изобретению, и также комбинациями в композициях и наборах по настоящему изобретению, во многих случаях является более высокой, чем просто аддитивной, показывая значения индексов комбинации CI значительно ниже 1, что свидетельствует о синергии для этих комбинаций. Данное удивительное открытие является дополнительным доказательством особой эффективности комбинаций, композиций и наборов по настоящему изобретению для лечения рака.

Примеры раковых заболеваний, которые поддаются лечению комбинациями, композициями и наборами по настоящему изобретению, включают гематологические злокачественные опухоли, такие как множественная миелома, лимфома и лейкоз, рак молочной железы, рак легких, колоректальный рак, рак предстательной железы, рак яичка, рак поджелудочной железы, рак печени, рак желудка, рак желчных протоков, рак пищевода, гастроинтестинальную стромальную опухоль, рак шейки матки, рак яичника, рак матки, рак почки, меланому, базально-клеточный рак, плоскоклеточный рак, рак мочевого пузыря, саркому, мезотелиому, тимому, миелодиспластический синдром, глиобластому и миелопролиферативное заболевание. В частности, комбинации, композиции и наборы по настоящему изобретению эффективны против гематологической злокачественной опухоли, такой как множественная миелома, лимфома и лейкоз, и рака молочной железы. В одном варианте осуществления комбинации, композиции или набора для применения в лечении рака по четвертому аспекту настоящего изобретения или способа лечения по пятому аспекту настоящего изобретения рак выбран из гематологической злокачественной опухоли и рака молочной железы.

В тех случаях, когда комбинация, композиция или набор по настоящему изобретению предназначены для применения в лечении гематологической злокачественной опухоли, то предпочтительно последняя может быть выбрана из множественной миеломы (например, активной миеломы, плазмоцитомы, миеломной болезни легких цепей или несекреторной миеломы), лимфомы (например, лимфомы Ходжкина или неходжкинской лимфомы) и лейкоза [острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), острого миелоидного лейкоза (ОМЛ, в том числе, миелобластного лейкоза, острого промиелоцитарного лейкоза, острого миеломоноцитарного лейкоза, острого моноцитарного лейкоза, острого эритролейкоза и острого мегакариобластного лейкоза, со всеми формами, которые поддаются лечению на всех стадиях, включая рецидивирующие и рефракторные фазы), хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ), волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ), Т-клеточного пролимфоцитарного лейкоза (T-PLL), лейкоза из больших гранулированных лимфоцитов или Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза].

В тех случаях, где комбинация, композиция или набор по настоящему изобретению предназначены для применения в лечении рака молочной железы, то рак молочной железы, как правило, может быть выбран из опухолей с низкой экспрессией клаудина, базально-подобных опухолей, рецептор эпидермального фактора роста 2 человека (HER2)-положительных опухолей, люминальных опухолей типа А и люминальных опухолей типа В, и он предпочтительно представляет собой тройной негативный рак молочной железы.

В одном предпочтительном варианте осуществления комбинации, композиции или набора для применения в лечении рака по настоящему изобретению и способа лечения рака по настоящему изобретению, глюкокортикоид, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, если он присутствует, ингибитор протеасом вводят одновременно, последовательно или раздельно. Более предпочтительно глюкокортикоид, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, если он присутствует, ингибитор протеасом вводят одновременно.

В комбинации, композиции или наборе для применения в лечении рака и способе лечения рака по настоящему изобретению соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль, как правило, вводят пациенту, нуждающемуся в этом, в диапазоне доз от 10 до 100 мг/кг массы тела пациента, и предпочтительно в диапазоне доз от 40 до 80 мг/кг массы тела пациента. Как правило, глюкокортикоид вводят в диапазоне доз от 0,1 до 1 мг/кг массы тела пациента и предпочтительно в диапазоне доз от 0,3 до 0,5 мг/кг массы тела пациента. В тех случаях, когда ингибитор протеасом также вводится пациенту вместе с соединением формулы I или его солью и глюкокортикоидом, то ингибитор протеасом, как правило, вводят в диапазоне доз от 0,01 до 0,3 мг/кг массы тела пациента. Предпочтительно ингибитор протеасом вводят пациенту в диапазоне доз от 0,05 до 0,15 мг/кг массы тела пациента.

Терапевтически эффективное количество комбинации, композиции или набора по настоящему изобретению представляет собой количество комбинации, композиции или набора, которое обеспечивает терапевтический эффект по четвертому и пятому аспектам настоящего изобретения у субъекта, который подлежит лечению, при приемлемом соотношении польза/риск, которое применимо к любому медицинскому лечению. Терапевтический эффект может быть объективным (т.е. хорошо оцениваемым с использованием некоторого теста или маркера) или субъективным (т.е. субъект указывает на наличие эффекта или чувствует эффект). Эффективное количество комбинации, композиции или набора по настоящему изобретению, как полагают, представляет такое количество, когда соединение формулы I или его соль включены в комбинацию в диапазоне доз от 10 до 100 мг/кг массы тела пациента (например, от 40 до 80 мг/кг массы тела пациента, например 40, 50, 60, 70 или 80 мг/кг массы тела пациента), глюкокортикоид включен в диапазоне доз от 0,03 до 1 мг/кг массы тела пациента (например, от 0,3 до 0,5 мг/кг массы тела пациента, например 0,3, 0,4 или 0,5 мг/кг массы тела пациента) и ингибитор протеасом, если он присутствует, включен в диапазоне доз от 0,01 до 0,3 мг/кг массы тела пациента (например, от 0,05 до 0,15 мг/кг, например 0,05, 0,1 или 0,15 мг/кг массы тела пациента).

Эффективные дозы будут варьировать в зависимости от способа введения, а также возможности совместного использования с другими активными агентами. Однако следует понимать, что общее суточное

применение комбинаций, композиций и наборов по настоящему изобретению будет определяться лечащим врачом в рамках здравого медицинского суждения. Конкретный терапевтически эффективный уровень дозы для каждого конкретного пациента будет зависеть от множества факторов, в том числе расстройства, подлежащего лечению, и тяжести расстройства; активности конкретного используемого соединения; конкретной используемой композиции; возраста, массы тела, общего состояния здоровья, пола и рациона питания пациента; времени введения, пути введения и скорости выделения конкретного используемого соединения; продолжительности лечения; лекарственных средств, используемых в сочетании или одновременно с конкретным используемым соединением; и подобных факторов, хорошо известных в области медицины. Настоящее изобретение также относится к применению комбинации, композиции или набора по первому, второму или третьему аспекту настоящего изобретения в производстве лекарственного средства для лечения рака, например для лечения гематологической злокачественной опухоли или рака молочной железы.

Подходящие примеры способа введения комбинации, композиции или набора по настоящему изобретению включают, без ограничения, пероральный, местный, парентеральный, сублингвальный, ректальный, интравагинальный, внутриглазной и интраназальный. Парентеральное введение включает подкожные инъекции, внутривенные, внутримышечные, интрастернальные инъекции или инфузии. Предпочтительно комбинации, композиции и наборы вводятся парентерально. Комбинации, композиции и наборы по настоящему изобретению могут быть составлены таким образом, чтобы обеспечить биодоступность комбинации или композиции по настоящему изобретению при введении комбинации, композиции или набора животному, предпочтительно человеку. Композиции могут иметь форму одной или более разовых лекарственных форм, где, например, таблетка может представлять разовую лекарственную форму, и контейнер комбинации или композиции по настоящему изобретению в аэрозольной форме может содержать множество разовых лекарственных форм.

Предпочтительно комбинации по настоящему изобретению обеспечиваются в виде наборов. Как правило, набор включает глюкокортикоид, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и, необязательно, ингибитор протеасом. В некоторых вариантах осуществления набор может включать одну или более систем для доставки, например, для глюкокортикоида, соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли и, необязательно, ингибитора протеасом, или любой их комбинации, и указания по применению набора (например, инструкции по лечению субъекта). Эти указания/инструкции могут предоставить рекомендации по введению глюкокортикоида, соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли и, если он присутствует, ингибитора протеасом, комбинации одновременно, последовательно или раздельно в соответствии с переменными показателями, такими как конкретное патологическое состояние, подлежащее лечению, тяжесть состояния, активность конкретных используемых соединений; конкретная используемая комбинация; возраст, масса тела, общее состояние здоровья, пол и рацион питания пациента; время введения, путь введения и скорость выделения конкретных используемых соединений; продолжительность лечения; лекарственные средства, используемые в сочетании или одновременно конкретными используемыми соединениями; и подобные факторы, хорошо известные в области медицины.

Фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель может быть в форме частиц, таким образом, что композиции, например, находятся в форме таблетки или порошка. Носитель (носители) может быть жидким, для комбинаций, композиций или наборов представляющих, например, сироп для перорального введения или жидкость для инъекций. Кроме того, носитель (носители) может быть газообразным, для обеспечения, таким образом, аэрозольной композиции, используемой, например, для ингаляционного введения. Такие фармацевтические носители могут представлять собой жидкости, такие как вода и масла, включая масла, полученные из нефти, масла животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и тому подобное. Носители могут представлять физиологический раствор, аравийскую камедь, желатин, крахмальную пасту, тальк, кератин, коллоидный диоксид кремния, мочевину и тому подобное. Кроме того, могут быть использованы вспомогательные, стабилизирующие, загущающие, смазывающие агенты и красители. В одном варианте осуществления при введении животному, комбинация, композиция или набор по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемые носители являются стерильными. Вода является предпочтительным носителем, когда комбинация или композиция по настоящему изобретению вводится внутривенно. Солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также могут быть использованы в качестве жидких носителей, в частности, для инъекционных растворов. Подходящие фармацевтические носители также включают эксципиенты, такие как крахмал, глюкоза, лактоза, сахароза, желатин, солод, рис, мука, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропиленгликоль, вода, этанол и тому подобное. Если требуется, то композиции по настоящему изобретению также могут содержать незначительные количества смачивающих или эмульгирующих агентов или буферных агентов для установления pH.

Когда они предназначены для перорального введения, то комбинация или композиция могут находиться в твердой или жидкой форме, где полутвердые, полужидкие, суспензионные и гелевые формы включаются в формы, рассматриваемые в данном документе как твердые или жидкие.

В качестве твердой композиции для перорального введения комбинация, композиция или набор могут быть приготовлены в виде порошка, гранул, прессованной таблетки, пилюли, капсулы, жевательной резинки, облатки или подобной лекарственной формы. Такая твердая композиция обычно содержит один или более инертных разбавителей, либо в виде одной таблетки, содержащей все активные агенты, либо в виде нескольких отдельных твердых композиций, каждая из которых содержит один активный агент комбинации по настоящему изобретению (в случае набора). Кроме того, может присутствовать одно или более из следующих веществ: связующие вещества, такие как карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза или желатин; эксципиенты, такие как крахмал, лактоза или декстрины; разрыхлители, такие как альгиновая кислота, альгинат натрия, кукурузный крахмал и тому подобное; смазывающие вещества, такие как стеарат магния; скользящие вещества, такие как коллоидный диоксид кремния; подсластители, такие как сахароза или сахарин; ароматизирующий агент, такой как мята перечная, метилсалицилат или апельсиновый ароматизатор; и окрашивающий агент.

Когда комбинация или композиция находится в форме капсулы (например, желатиновой капсулы), то она может содержать, в дополнение к веществам вышеуказанного типа, жидкий носитель, такой как полиэтиленгликоль, циклодекстрин или жирное масло.

Комбинация, композиция или набор могут находиться в виде жидкости, например, эликсира, сиропа, раствора, эмульсии или суспензии. Жидкость может быть пригодной для перорального введения или для доставки посредством инъекции. Когда она предназначена для перорального введения, то комбинация, композиция или набор могут содержать одно или более из следующих веществ: подсластитель, консерванты, краситель/окрашивающий агент и усилитель вкуса. В комбинации или композиции для введения посредством инъекции также может быть включено одно или более из следующих веществ: поверхностно-активное вещество, консервант, смачивающий агент, диспергирующий агент, суспендирующий агент, буфер, стабилизатор и изотонический агент. В наборе по настоящему изобретению жидкие компоненты, содержащие один или более активных агентов в композиции, могут либо быть объединены до введения и вводиться одновременно, либо каждый активный агент можно вводить последовательно или раздельно.

Предпочтительным путем введения является парентеральное введение, включая, не ограничиваясь этим, внутрикожный, внутримышечный, внутрибрюшинный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный, интраназальный, внутрицеребральный, интравентрикулярный, интратекальный, интравагинальный или трансдермальный. Предпочтительный способ введения остается на усмотрение лечащего врача и частично будет зависеть от локализации патологического процесса (например, локализации рака). В более предпочтительном варианте осуществления комбинации, композиции и наборы по настоящему изобретению вводятся внутривенно.

Жидкие комбинации, композиции и наборы по настоящему изобретению независимо от того, являются ли они растворами, суспензиями или другими аналогичными формами, могут также включать одно или более из следующего: стерильные разбавители, такие как вода для инъекций, солевой раствор, предпочтительно физиологический раствор, раствор Рингера, изотонический раствор хлорида натрия, нелетучие масла, такие как синтетические моно- или диглицериды, полиэтиленгликоли, глицерин или другие растворители; антибактериальные агенты, такие как бензиловый спирт или метилпарабен; и агенты для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Комбинация или композиция для парентерального введения может быть помещена в ампулу, одноразовый шприц или мультидозовый флакон из стекла, пластика или другого материала. Физиологический раствор является предпочтительным адъювантом.

Для введения (например, внутривенного) комбинация или композиция, как правило, может содержать соединение формулы I, или его соль в диапазоне доз от 10 до 100 мг/кг массы тела пациента, глюкокортикоид в диапазоне доз от 0,1 до 1 мг/кг массы тела пациента и ингибитор протеасом в диапазоне доз от 0,01 до 0,3 мг/кг массы тела пациента. Более предпочтительно комбинация или композиция, как правило, может содержать соединение формулы I или его соль в диапазоне доз от 40 до 80 мг/кг массы тела пациента, глюкокортикоид в диапазоне доз от 0,3 до 0,5 мг/кг массы тела пациента, и ингибитор протеасом в диапазоне доз от 0,05 до 0,15 мг/кг массы тела пациента.

Комбинации по изобретению могут быть составлены таким образом, что глюкокортикоид, соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль и, если он присутствует, ингибитор протеасом адаптированы для введения одновременно, последовательно или раздельно. Предпочтительно, они вводятся одновременно.

Комбинацию, композицию или набор по настоящему изобретению можно вводить любым удобным способом, например инфузией или болюсной инъекцией, абсорбцией через эпителиальные или кожно-слизистые выстилки.

В конкретных вариантах осуществления может быть желательным ввести одну или более комбинаций, композиций или наборов по настоящему изобретению или комбинации, композиции или наборы локально в области, требующей лечения. В одном варианте осуществления введение может быть выполнено непосредственной инъекцией в место (или бывшее место) локализации рака, опухоли или неопластической или преднеопластической ткани.

Также может быть использовано введение в легкие, например, с использованием ингалятора или распылителя и композиции с распылительным агентом или посредством перфузии во фторуглероде или синтетическом легочном сурфактанте. В некоторых вариантах осуществления комбинация, композиция или набор по настоящему изобретению или композиции могут быть составлены в виде суппозиториев, с традиционными связующими агентами и носителями, такими как триглицериды.

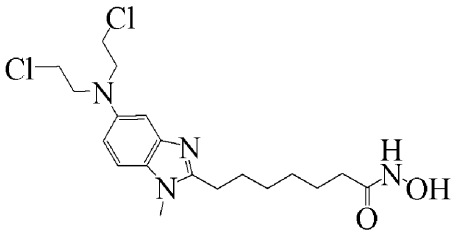
Комбинация, композиция или набор по настоящему изобретению могут иметь форму растворов, суспензий, эмульсии, таблеток, пилюль, гранул, капсул, капсул, содержащих жидкости, порошков, составов с замедленным высвобождением, суппозиториев, эмульсий, аэрозолей, спреев, суспензий или любой другой формы, пригодной для применения. Другие примеры подходящих фармацевтических носителей описаны в монографии E.W. Martin "Remington's Pharmaceutical Sciences".

Фармацевтические комбинации, композиции и наборы могут быть получены с использованием методологии, хорошо известной в области фармации. Например, композиция, предназначенная для введения инъекцией, может быть получена объединением компонентов набора по настоящему изобретению с водой таким образом, чтобы образовался раствор. Может быть добавлено поверхностно-активное вещество, чтобы облегчить образование гомогенного раствора или суспензии.

Комбинации, композиции и наборы по настоящему изобретению особенно эффективны в лечении рака. Комбинации, композиции и наборы по настоящему изобретению, как было показано, обладают высокой активностью против широкого ряда типов опухолевых клеток in vitro и in vivo, что делает их особенно интересными для разработки в целях применения в лечении рака, например гематологической злокачественной опухоли и рака молочной железы.

**Примеры**

В последующих примерах соединение, имеющее следующую формулу I, относится к EDO-S101 (или EDO на фигурах):



Оно может быть получено, как описано в примере 5, в международной заявке WO-A-2010/085377.

Пример 1. Комбинации на основе EDO-S101 in vitro клеточная линия множественной миеломы MM1S.

EDO-S101 объединяли in vitro с дексаметазоном и бортезомибом в клеточной линии множественной миеломы MM1S (полученной из LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, Франция). Активность оценивали с использованием MTT-теста, основанного на метаболическом восстановлении бромида из 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразола (MTT), который образуется при катализе митохондриальным ферментом сукцинатдегидрогеназой, превращаясь в окрашенное в синий цвет соединение под названием формазан. Затем определяют функционирование митохондрий обработанных клеток. Данный метод широко используется для оценки пролиферации клеток и способности выживания. Количество оставшихся живых клеток пропорционально количеству образовавшегося формазана.

Вкратце методика выполняется следующим образом.

30000 клеток MM1S на лунку помещали в 96-луночные планшеты для микротитрования.

Готовили разведения EDO-S101 и PI в ДМСО и дексаметазона в этаноле и добавляли в лунки до конечных концентраций, указанных в протоколе эксперимента.

Планшеты инкубировали в течение 24-48-72 ч в термостате при 37°C во влажной атмосфере в присутствии 5% $CO_2$/95% воздуха.

После инкубации 10 мкл раствора MTT добавляли в каждую лунку и инкубировали в течение 2 ч для обеспечения образования кристаллов формазана.

Добавляли 100 мкл смешанного раствора с SDS плюс HCl (10 мкл HCl на каждые 12 мл SDS) для растворения кристаллов формазана.

Измеряли оптическую плотность OD при 570 нм и использовали референтную длину волны 650 нм.

Вычисляли жизнеспособность клеток (в процентах) следующим образом:

жизнеспособность %=OD обработанных клеток ×100/OD контрольных клеток.

Каждую концентрацию испытывали в четырех повторах, и каждый эксперимент проводили по меньшей мере два раза.

Таблица 1

| 48 ч | | | |
|---|---|---|---|
| **Значение CI, полученное по экспериментальным данным** | | | |
| Dexa 48 ч (нМ) | EDO 48 ч (нМ) | Fa | CI |
| 2,5 | 500 | 0,43453 | 0,851 |
| 5 | 1000 | 0,56838 | 0,761 |
| 0 | 2000 | 0,683802 | 0,765 |
| **Значение CI, полученное по экспериментальным данным** | | | |
| Bortz 48 ч (нМ) | EDO 48 ч (нМ) | Fa | CI |
| 0,75 | 500 | 0,247333 | 1,087 |
| 1,5 | 1000 | 0,452958 | 1,230 |
| 3 | 2000 | 0,918526 | 0,627 |
| **Значение CI, полученное по экспериментальным данным** | **двойная комбинация** | | |
| Dexa 48 ч (нМ) | Bortz 48 ч (нМ) | Fa | CI |
| 2,5 | 0,75 | 0,413191 | 1,105 |
| 5 | 1,5 | 0,620757 | 0,879 |
| 10 | 3 | 0,935984 | 0,494 |
| **Значение CI, полученное по экспериментальным данным** | | | |
| Dexa 48 ч (нМ) | Bortz 48 ч (нМ) | EDO 48 ч (нМ) | Fa | CI |
| 2,5 | 0,75 | 150 | 0,455868 | 0,958 |
| 5 | 1,5 | 300 | 0,673133 | 0,789 |
| 10 | 3 | 600 | 0,962173 | 0,404 |

Концентрации различных препаратов по отношению друг к другу были постоянными для всех экспериментов. EDO-S101 при 500 нМ, 1 мкМ, 2,5 мкм; дексаметазон при 2,5, 5, 10 нМ; и бортезомиб при 0,75, 1,5, 3 нМ.

Результаты представлены в нижеследующей табл. 1 и на фиг. 1.

Эффективность комбинации оценивали количественно с использованием программного обеспечения Calcusyn (blosoft, Ferguson, MO, США), которое основано на методе Chou Talay (Chou et al., Adv. Enzyme Regul. , 22, 27-55 (1984)), с помощью которого вычисляется индекс комбинации (CI) с применением следующего толкования: CI>1: антагонистический эффект, CI=1: аддитивный эффект и CI:<1 синергический эффект.

Как следует по данным фиг. 1 и приведенным выше результатам опыта в табл. 1, EDO-S101 проявляет синергизм с дексаметазоном и также показывает синергизм в тройной комбинации с дексаметазоном и бортезомибом.

В другом эксперименте ту же постоянную концентрацию этих препаратов инкубировали в течение 72 ч вместо 48 ч. Результаты представлены ниже в табл. 2 и на фиг. 2.

Таблица 2

| 72 ч | | | |
|---|---|---|---|
| **Значение CI, полученное по экспериментальным данным** | | | |
| Dexa (нМ) | EDO (нМ) | Fa | CI |
| 2,5 | 500 | 0,576413 | 0,682 |
| 5 | 1000 | 0,69365 | 0,836 |
| 10 | 2000 | 0,828332 | 0,829 |

| Значение CI, полученное по экспериментальным данным | | | |
|---|---|---|---|
| Bortz (нМ) | EDO (нМ) | Fa | CI |
| 0,75 | 500 | 0,310537 | 1,336 |
| 1,5 | 1000 | 0,780181 | 1,166 |
| 3 | 2000 | 0,999302 | 0,489 |
| **Значение CI, полученное по экспериментальным данным** | **двойная комбинация** | | |
| Dexa (нМ) | Bortz (нМ) | Fa | CI |
| 2,5 | 0,75 | 0,411026 | 1,441 |
| 5 | 1,5 | 0,865318 | 0,876 |
| 10 | 3 | 1 | 0,017 |
| **Значение CI, полученное по экспериментальным данным** | | | |
| Dexa (нМ) | Bortz (нМ) | EDO (нМ) | Fa | CI |
| 2,5 | 0,75 | 500 | 0,607118 | 1,115 |
| 5 | 1,5 | 1000 | 0,923936 | 0,845 |
| 10 | 3 | 2000 | 1 | 0,017 |

Вновь, можно видеть по данным фиг. 2 и приведенным выше результатам в табл. 2, что EDO-S101 проявляет синергизм с дексаметазоном и также показывает синергизм в тройной комбинации с дексаметазоном и бортезомибом.

Пример 2. Комбинации на основе EDO-S101 in vivo против ксенотрансплантата подкожной плазмоцитомы.

Мышам CB17-SCID (полученным из питомника Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) подкожно прививали в правый бок $3\times10^6$ клеток множественной миеломой MM1S (полученных из LGC Standards S.a.r.l., 6, rue Alfred Kastler, BP 83076, F-67123 Molsheim Cedex, Франция) в 100 мкл RPMI 1640 и 100 мкл Matrigel (BD Biosciences). Когда опухоли становились пальпируемыми, мышей рандомизировали на 8 групп лечения с 5 мышами в каждой группе.

Группы были следующими:

контроль (группа, получавшая только растворитель);

бортезомиб в дозе 1 мг/кг два раза в неделю внутрибрюшинно в течение трех недель;

дексаметазон в дозе 0,5 мг два раза в неделю внутривенно в течение трех недель;

EDO-S101 внутривенно в дозе 30 мг/кг один раз в неделю, 3 дозы;

бортезомиб плюс дексаметазон;

бортезомиб плюс EDO-S101;

EDO-S101 плюс дексаметазон.

Тройная комбинация EDO-S101 плюс бортезомиб и дексаметазон.

Измерения диаметра опухолей циркулем проводили каждый день и объем опухоли определяли как объем эллипса, используя следующую формулу:

$$V=4/3\text{ТТ} \times (a/2) \times (b/2)2,$$

где "a" и "b" представляют самый длинный и самый короткий диаметр соответственно.

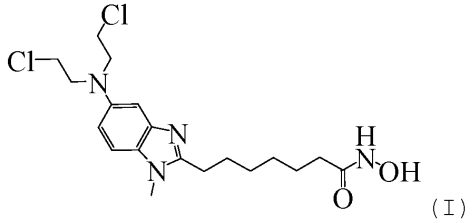
Результаты по росту опухолей показаны на фиг. 3 на графике роста опухолей ($мм^3$) по отношению к количеству дней исследования. Можно отметить, что введение комбинации EDO-S101 и дексаметазона приводит к более низким объемам опухолей, чем наблюдается с каждым одним агентом, в то время как тройная комбинация EDO-S101, бортезомиба и дексаметазона показывает значительно более низкие объемы опухолей в конце исследования, чем любой из активных агентов по отдельности.

В заключение, можно отметить, что соединение формулы I (EDO-S101) проявляет высокую активность в комбинации с глюкокортикоидными ингибиторами, такими как дексаметазон, in vitro и in vivo против множественной миеломы. Кроме того, можно отметить, что активность этих комбинаций является высоко синергической. Также очевидно, что тройные комбинации, содержащие соединение формулы I, глюкокортикоид и ингибитор протеасом, такой как бортезомиб, показали особенно четко выраженный синергизм. Следует ожидать, что эти комбинации будут активны против широкого ряда гематологических злокачественных опухолей, и не только миеломы, но и других гематологических заболеваний, таких как лимфома и лейкоз. Также заявители полагают, что эти комбинации могут быть активны в отношении других видов рака, таких как рак молочной железы.

В результате, следует ожидать, что комбинации соединения формулы I по изобретению с глюкокортикоидами, необязательно содержащие ингибитор протеасом, будут пригодны в лечении рака, особенно гематологических злокачественных опухолей и рака молочной железы.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Терапевтическая комбинация для лечения гематологического рака, характеризующаяся тем, что она содержит дексаметазон и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль



(I)

2. Терапевтическая комбинация по п.1, где фармацевтически приемлемая соль соединения формулы I представляет собой гидрохлорид, гидробромид, гидроиодид, сульфат, бисульфат, сульфамат, нитрат, фосфат, цитрат, метансульфонат, трифторацетат, глутамат, глюкуронат, глутарат, малат, малеат, сукцинат, фумарат, тартрат, тозилат, салицилат, лактат, нафталинсульфонат или ацетат.

3. Терапевтическая комбинация по п.1 или 2, где молярное отношение дексаметазона к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в указанной комбинации составляет от 1:500 до 500:1.

4. Фармацевтическая композиция, характеризующаяся тем, что она содержит фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель и терапевтическую комбинацию по любому из пп.1-3.

5. Терапевтический набор, характеризующийся тем, что он содержит терапевтическую комбинацию по любому из пп.1-3 и инструкции по лечению пациента.

6. Применение терапевтической комбинации по любому из пп.1 и 3 в производстве лекарственного средства для лечения гематологического рака.

7. Применение по п.6, где указанный гематологический рак выбирают из множественной миеломы, лимфомы и лейкоза.

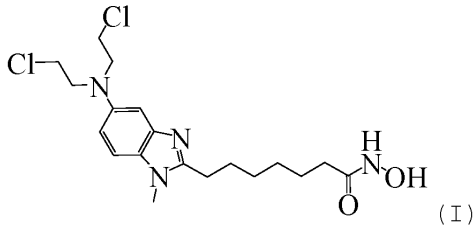
8. Применение по п.6 или 7, где указанный гематологический рак является рецидивирующим и/или рефракторным.

9. Применение по любому из пп.6, 7 или 8, где в указанном лечении дексаметазон и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль вводят одновременно, последовательно или раздельно.

10. Применение по любому из предыдущих пп.6-9, где в указанном лечении дексаметазон вводят в интервале доз от 0,1 до 1 мг/кг массы тела пациента.

11. Применение по п.10, где в указанном лечении дексаметазон вводят в интервале доз от 0,3 до 0,5 мг/кг массы тела пациента.

12. Способ лечения гематологического рака у пациента, включающий введение соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с дексаметазоном



(I)

13. Способ по п.12, в котором фармацевтически приемлемая соль соединения формулы I представляет собой гидрохлорид, гидробромид, гидроиодид, сульфат, бисульфат, сульфамат, нитрат, фосфат, цитрат, метансульфонат, трифторацетат, глутамат, глюкуронат, глутарат, малат, малеат, сукцинат, фумарат, тартрат, тозилат, салицилат, лактат, нафталинсульфонат или ацетат.

14. Способ по п.12 или 13, где молярное отношение дексаметазона к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли составляет от 1:500 до 500:1.

15. Способ по любому из пп.12-14, в котором дексаметазон и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль вводят одновременно, последовательно или раздельно.

16. Способ по любому из пп.12-15, где указанный гематологический рак выбирают из множественной миеломы, лимфомы и лейкемии.

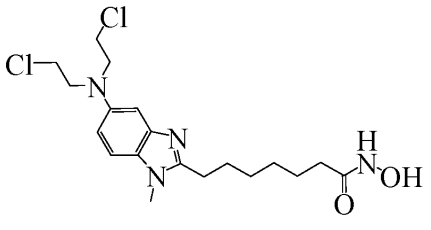
17. Способ по любому из пп.12-16, где указанный гематологический рак является рецидивирующим и/или рефракторным.

18. Способ по любому из пп.12-17, где дексаметазон вводят в интервале доз от 0,1 до 1,0 мг/кг мас-

сы тела пациента.

19. Способ по п.18, где дексаметазон вводят в интервале доз от 0,3 до 0,5 мг/кг массы тела пациента.

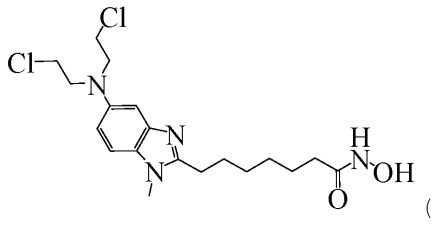
20. Применение фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль



(I)

и дексаметазон для лечения гематологического рака.

21. Применение комбинации, содержащей соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль



(I)

и дексаметазон для лечения гематологического рака.

22. Применение по п.20 или 21, где фармацевтически приемлемая соль соединения формулы I представляет собой гидрохлорид, гидробромид, гидроиодид, сульфат, бисульфат, сульфамат, нитрат, фосфат, цитрат, метансульфонат, трифторацетат, глутамат, глюкуронат, глутарат, малат, малеат, сукцинат, фумарат, тартрат, тозилат, салицилат, лактат, нафталинсульфонат или ацетат.

23. Применение по любому из пп.20-22, где молярное соотношение дексаметазона к соединению формулы I или его фармацевтически приемлемой соли составляет от 1:500 до 500:1.

24. Применение по любому из пп.20-23, где указанный гематологический рак выбран из множественной миеломы, лимфомы и лейкемии.

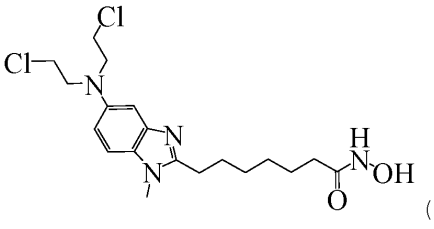
25. Применение по любому из пп.20-24, где указанный гематологический рак рецидивирует и/или не поддается лечению.

26. Применение по любому из пп.20-25, где при указанном лечении дексаметазон и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль вводятся одновременно, последовательно или раздельно.

27. Применение по любому из пп.20-26, где при указанном лечении дексаметазон вводят в интервале доз от 0,1 до 1 мг/кг массы тела пациента.

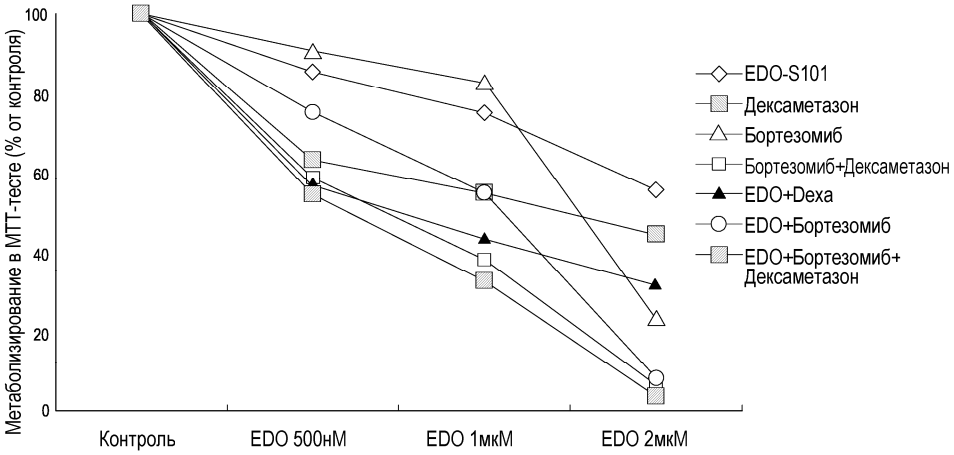
28. Применение по п.27, где в указанном лечении дексаметазон вводят в интервале доз от 0,3 до 0,5 мг/кг массы тела пациента.

29. Применение соединения формулы I

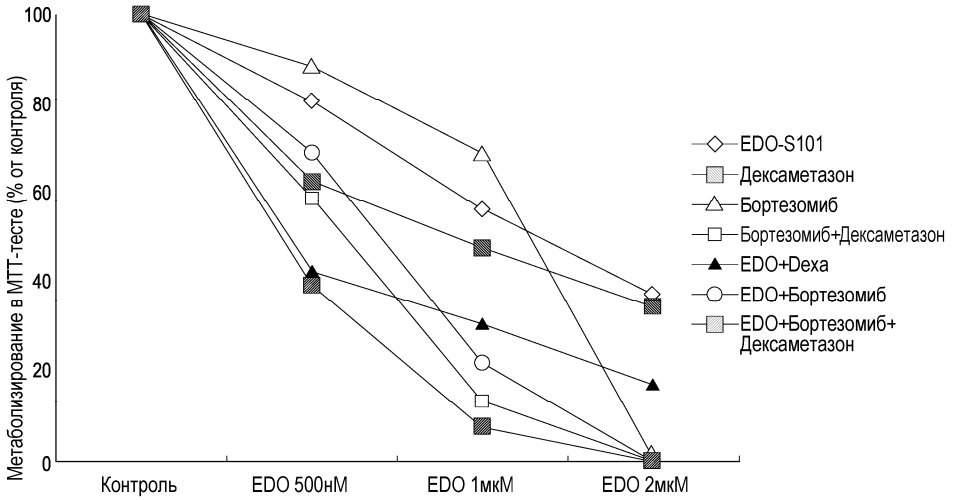


(I)

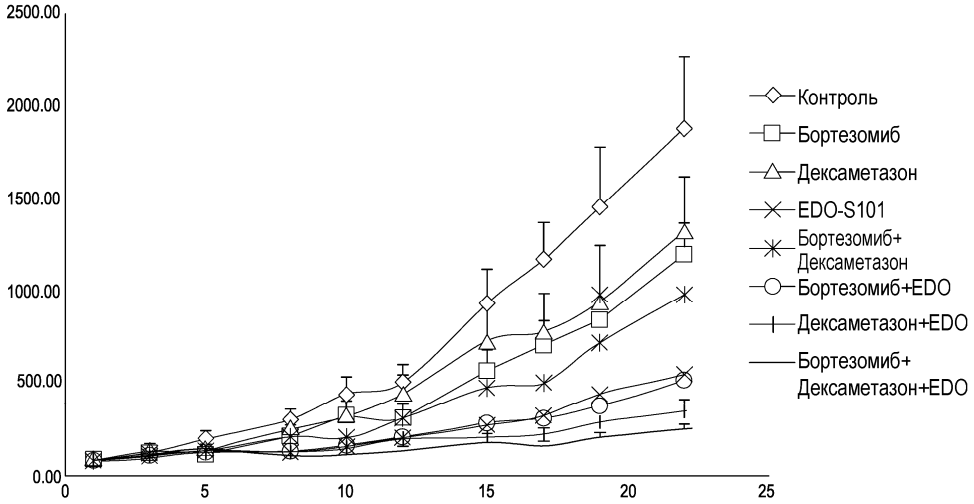
или его фармацевтически приемлемой соли и дексаметазона в производстве лекарственного средства для лечения гематологического рака.




Фиг. 1




Фиг. 2




Фиг. 3

Евразийская патентная организация, ЕАПВ
Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2