(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202092395 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.03.11

(22) Дата подачи заявки
2019.04.05

(51) Int. Cl. ***A61K 31/506*** (2006.01)
C07D 239/48 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) AXL ИНГИБИТОРЫ КИНАЗЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

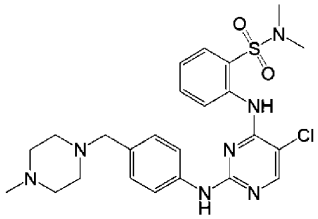
(31) **62/653,394; 62/663,146; 62/678,980; 62/688,161; 62/695,609; 62/698,638; 62/760,882; 62/767,475; 62/778,856; 62/813,705**
(32) **2018.04.05; 2018.04.26; 2018.05.31; 2018.06.21; 2018.07.09; 2018.07.16; 2018.11.13; 2018.11.14; 2018.12.12; 2019.03.04**
(33) **US**
(86) **PCT/US2019/026094**
(87) **WO 2019/195753 2019.10.10**

(71) Заявитель:
СУМИТОМО ДАИНИППОН ФАРМА ОНКОЛОДЖИ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Сиддикви-Джаин Адам, Уорнер Стивен Л., Флинн Пол, Беарсс Дэвид Дж., Фоулкс Джейсон Марк (US), Томимацу Нозоми, Фудзимура Кен, Умехара Хироки, Ноноями Акихито, Кигутия Акихито (JP)

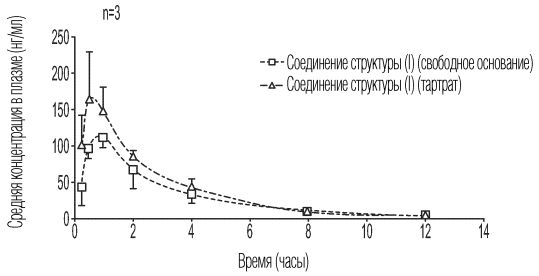
(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Тартраты соединения структуры (I)



(I)

их кристаллические формы и их терапевтическое применение для лечения солидных опухолей (например, распространенных солидных опухолей) или гемопоэтического рака. В настоящем изобретении также представлены способы синтеза тартратов и их кристаллических форм.



202092395 A1

202092395 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-565696EA/072

AXL ИНГИБИТОРЫ КИНАЗЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА

В этой заявке заявлен приоритет в соответствии с § 119 (e) закона 35 USC перед Предварительной заявкой на патент США, USSN. 62/813705, поданной 4 марта 2019 г., Предварительной заявкой на патент США, USSN. 62/778,856, поданной 12 декабря 2018 г., Предварительной заявкой на патент США, USSN. 62/767,475, поданной 14 ноября 2018 г., Предварительной заявкой на патент США, USSN. 62/760882, поданной 13 ноября 2018 г., Предварительной заявкой на патент США, USSN. 62/698 638, поданной 16 июля 2018 г., Предварительной заявкой на патент США, USSN. 62/695609, поданной 9 июля 2018 г., Предварительной заявкой на патент США, USSN. 62/688161, поданной 21 июня 2018 г., Предварительной заявкой на патент США, USSN. 62/678980, поданной 31 мая 2018 г., Предварительной заявкой на патент США, USSN. 62/663146, поданной 26 апреля 2018 г. и Предварительной заявкой на патент США, USSN. 62/653,394, поданной 5 апреля 2018 г., полное содержание каждой из которых включено в настоящий документ в качестве ссылки.

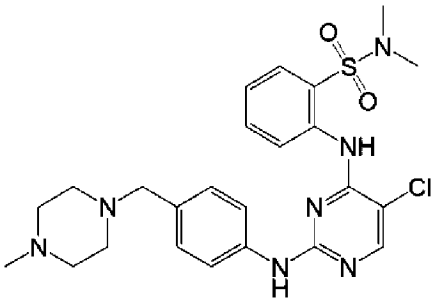
УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

AXL представляет собой поверхностноклеточный рецептор тирозинкиназы семейства TAM. Рецептор AXL связывает факторы роста, такие как витамин K-зависимый белок генов блокировки роста 6 (GAS6), и передает сигналы из внеклеточной матрицы в цитоплазму. Сообщается, что AXL является ингибитором врожденного иммунного ответа и может играть роль во многих клеточных процессах, связанных с ростом и развитием клеток.

Обнаружено, что AXL участвует в различных аспектах роста опухоли, включая пролиферацию раковых клеток, инвазивность и миграцию, а также стволовости, ангиогенезе и иммунной модуляции. Таким образом, AXL становится многообещающей мишенью для лечения рака.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном аспекте, настоящее раскрытие представляет тартрат соединения структуры (I):



(I)

В некоторых вариантах осуществления, описанный здесь тартрат может иметь молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) от примерно 1:1 до

примерно 2:1. Например, тартрат может иметь молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) примерно 2:1. Любой из описанных здесь тартратов может быть солью L-(+)-винной кислоты.

В другом аспекте настоящее раскрытие представляет кристаллическую форму любого из тартратов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления, кристаллическая форма представляет собой кристаллическую форму А, имеющую молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) примерно 2:1. В некоторых примерах форма А может быть по существу в чистой форме. В некоторых вариантах осуществления, кристаллическая форма включает форму А. В некоторых вариантах осуществления, кристаллическая форма состоит в основном из формы А.

Любая из раскрытых здесь кристаллических форм может характеризоваться порошковой рентгеновской дифракцией (ПРД), содержащей пики в единицах 2-тета, при 11,2±0,2, 17,1±0,2 и 19,9±0,2. Необязательно, кристаллическая форма может дополнительно содержать пик в единицах 2-тета при 15,4±0,2. Альтернативно или в дополнение, кристаллическая форма может дополнительно содержать пик в единицах 2-тета при 7,0±0,2. В некоторых примерах описанная здесь кристаллическая форма может быть охарактеризована дифрактограммой ПРД, содержащей три или более пиков в единицах 2-тета, выбранных из 7,0±0,2, 11,2±0,2, 15,4±0,2, 16,3±0,2, 17,1±0,2, 19,9±0,2, 21,6±0,2 и 25,5±0,2. В других примерах дифрактограмма ПРД может включать 4, 5, 6, 7 или 8 пиков в единицах 2-тета, выбранных из 7,0±0,2, 11,2±0,2, 15,4±0,2, 16,3±0,2, 17,1±0,2, 19,9±0,2, 21,6±0,2 и 25,5±0,2. В одном конкретном примере, дифрактограмма ПРД по существу идентична дифрактограмме ПРД, показанной на Фигуре 61.

Альтернативно или в дополнение, любая из раскрытых здесь кристаллических форм может быть охарактеризована термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), содержащей пик эндотерма в единицах°С примерно 185,0-194,0. В некоторых вариантах осуществления, пик эндотерма имеет начальную температуру около 186,3°С. В некоторых вариантах осуществления, раскрытая здесь кристаллическая форма может быть охарактеризована термограммой ДСК, содержащей пики эндотерма в единицах°С при примерно 107,8, примерно 152,1 и примерно 189,1. В одном конкретном примере, кристаллическая форма может иметь термограмму ДСК, которая по существу идентична термограмме, показанной на Фигуре 64.

Кроме того, любая из раскрытых здесь кристаллических форм может быть охарактеризована термограммой термогравиметрического анализа (ТГА), показывающей потерю веса около 1,8% при 160°С. Например, термограмма ТГА практически идентична термограмме, показанной на фигуре 64.

Любая из описанных здесь кристаллических форм может иметь начальную чистоту не менее 99% и последующую чистоту не менее 99% после хранения в течение примерно 15 дней при температуре примерно 25°С±2°С и относительной влажности 60°С±5%. В некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма может иметь начальную

чистоту не менее 99% и последующую чистоту не менее 99% после хранения в течение примерно 15 дней при примерно 40°C±2°C и относительной влажности 75±5%.

Также в объем настоящего раскрытия входит композиция, содержащая любой из тартратов, раскрытых здесь, или любую из кристаллических форм, также раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления, композиция содержит форму А по существу в чистой форме. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит, по меньшей мере, 90% формы А по массе. В некоторых вариантах осуществления, композиция по существу состоит из кристаллической Формы А.

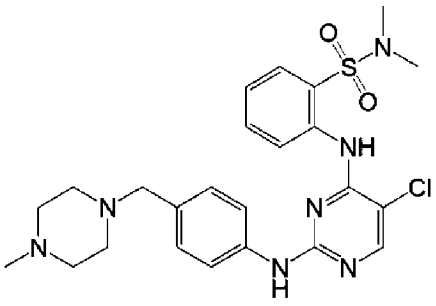
Любая из описанных здесь композиций может быть фармацевтической композицией и дополнительно содержать фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическая композиция может дополнительно содержать один или несколько дополнительных терапевтических агентов, например, гормональные терапевтические агенты, химиотерапевтические агенты, иммунотерапевтические агенты, факторы роста клеток или агенты для ингибирования действия рецепторов факторов роста клеток. Любая из описанных здесь фармацевтических композиций может быть приготовлена для перорального введения. Например, фармацевтическая композиция может быть составлена в виде капсулы или таблетки.

Кроме того, настоящее изобретение представляет стандартную дозу, содержащую любую из фармацевтических композиций, описанных в данном документе. Стандартная доза может включать примерно 1-100 мг тартрата. В некоторых вариантах осуществления, стандартная доза, раскрытая в настоящем документе, может включать примерно 1 мг, 4 мг, 16 мг, 25 мг, 50 мг, 75 мг или 100 мг тартрата. В некоторых вариантах осуществления стандартная доза может быть приготовлена в твердой желатиновой капсуле для перорального введения.

В другом аспекте настоящее раскрытие представляет способ лечения рака, включающий введение субъекту (например, человеку), нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества любого из тартратов, раскрытых в данном документе, любой из кристаллических форм, раскрытых в данном документе, любой из фармацевтических композиций, содержащих их, или любой из стандартных доз, также описанных в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления способ, раскрытый в данном документе, включает введение субъекту терапевтически эффективного количества тартрата, имеющего молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) примерно 2:1. В некоторых примерах, способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества кристаллической формы А, которая может быть по существу в чистой форме.

В дополнительном аспекте в настоящем документе представлен способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли или кристаллической формы. Соединение, или его фармацевтически приемлемую соль, или его кристаллическую форму можно вводить субъекту перорально один раз в день в дозе от примерно 1,5 мг/м^2 до примерно 65 мг/м^2, или в дозе от примерно 20 мг до примерно 100 мг. У субъекта может быть любая опухоль *(например,* прогрессирующая солидная опухоль) или гемопоэтический рак, как описано здесь. В некоторых вариантах осуществления, субъект может пройти одну или несколько предшествующих противораковых терапий, *например*, описанных здесь.

В некоторых вариантах осуществления, соединение структуры (I), или его фармацевтически приемлемую соль, или его кристаллическую форму можно вводить перорально в дозе примерно 1,0, примерно 1,5, примерно 3,0, примерно 6,0, примерно 9,0, примерно 12,0, примерно 16,0, примерно 21,0, примерно 28,0, примерно 37,0, примерно 49,0 или примерно 65,0 мг/м^2. Например, соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль или кристаллическую форму можно вводить субъекту в качестве единственного противоракового агента в суточной дозе примерно 25 мг, примерно 33 мг, примерно 45 мг, примерно 50 мг, примерно 58 мг, примерно 75 мг или примерно 100 мг. В конкретных примерах, соединение структуры (I), или его фармацевтически приемлемую соль, или его кристаллическую форму, вводят субъекту перорально одновременно со вторым противораковым агентом, и суточная доза соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли, или его кристаллической формы составляет около 20 мг, около 25 мг, около 30 мг, около 35 мг, около 40 мг, около 45 мг, около 50 мг, около 55 мг, около 60 мг, около 65 мг, около 70 мг, около 75 мг, около 80 мг, около 85 мг, около 90 мг, около 95 мг или около 100 мг.

В любом из описанных здесь способов рак может представлять собой солидную опухоль или гематологический рак. Примеры солидных опухолей включают, но не ограничиваются ими, опухоли костей, органов пищеварения, репродуктивных органов, головы, шеи, легких, сердца, кожи, нервной системы, эндокринной системы, нейроэндокринной системы, мочевыделительной системы, мягких тканей или головного мозга. Примеры злокачественных опухолей кроветворения включают, но не ограничиваются ими, множественную миелому, миелодиспластический синдром (МДС), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый лимфоцитарный лейкоз, хронический лимфогенный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (МЛЛ), лимфому из мантийных

клеток, диффузную В-крупноклеточную лимфому, фолликулярную лимфому или неходжкинскую лимфому.

В некоторых вариантах осуществления, рак представляет собой прогрессирующую солидную опухоль и/или демонстрирует прогрессирование заболевания после получения одной или нескольких предшествующих противораковых терапий. Например, солидная опухоль может быть резистентной, вторичной, трудно поддающейся лечению или рецидивирующей солидной опухолью. В некоторых примерах, одна или несколько предшествующих терапий рака включают гормональный терапевтический агент, химиотерапевтический агент (например, алкилирующий агент, агент на основе платины, антиметаболит, противораковый антибиотик или противораковый агент растительного происхождения), иммунотерапевтический агент или ингибитор поверхностноклеточного рецептора. Примеры химиотерапевтических средств включают, но не ограничиваются ими, карбоплатин, цисплатин, мибоплатин, недаплатин и оксалиплатин.

В некоторых вариантах осуществления, субъект ранее прошел одну или несколько предшествующих терапий рака, которые могут включать иммунотерапию, химиотерапию или их сочетание.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется солидная опухоль, которая может представлять собой немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ), колоректальную карциному (КРК), рак яичников, меланому, карциному молочной железы, нейродокринную карциному, аденокарциному простаты, холангиокарциному, карциному матки и рак поджелудочной железы.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта может быть, по меньшей мере, стабильное заболевание после получения иммунотерапии. Например, субъект может пройти до двух курсов иммунотерапии.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта может быть $EGFR^+$ НМКРЛ. В некоторых примерах, субъект может демонстрировать прогрессирование заболевания после получения одного или нескольких курсов химиотерапии, содержащих один или несколько ингибиторов тирозинкиназы (ИТК), которые могут включать EGFR ИТК. В некоторых примерах, субъект может иметь, по меньшей мере, стабильное заболевание после приема до двух курсов ИТК.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта может быть BRAF-, KRAS- или NRAS-мутированная колоректальная карцинома (КРК).

В некоторых вариантах осуществления у субъекта может быть стойкий или рецидивирующий рак яичников. Например, субъект может быть невосприимчивым или устойчивым к препарату на основе платины, прошедшим предшествующую терапию или оба варианта. В некоторых примерах, агентом на основе платины является карбоплатин, цисплатин, мибоплатин, недаплатин или оксалиплатин.

В некоторых вариантах осуществления, у субъекта может быть меланома с мутацией BRAF. В некоторых примерах у субъекта может развиться заболевание после иммунотерапии, химиотерапии, содержащей один или несколько ингибиторов

BRAF/MEK, или их сочетания.

В некоторых вариантах осуществления, субъект может быть устойчивым к иммунотерапии, и при этом способ дополнительно включает введение субъекта такой же иммунотерапии. В некоторых примерах, иммунотерапия включает анти-PD-1 или анти-PD-L1 агент.

В любом из описанных здесь способов (например, способ лечения EGFR+ НМКРЛ) субъект может быть устойчивым к химиотерапии, содержащей ИТК. Такой способ может дополнительно включать в себя такую же химиотерапию.

В любом из описанных здесь способов субъект не принимает стероиды в количестве, эквивалентном 15 мг/день преднизона. Альтернативно или дополнительно, способ может дополнительно включать введение субъекту сопутствующих стероидов. В некоторых вариантах осуществления, субъект может не получать противораковую терапию, по меньшей мере, в течение месяца до первой дозировки тартрата, не иметь метаболизаторов CYP2C19 и/или антагонистов H2-рецептора, по меньшей мере, в течение 7 дней до первой дозы тартарата.

В любом из описанных здесь способов субъекту можно перорально вводить тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию, содержащую его, в суточной дозе примерно 1,0, 1,5, 3,0, 6,0, 9,0, 12,0, 16,0, 21,0. , 28,0, 37,0, 49,0 или 65,0 мг/м^2 тартрата. В некоторых примерах, субъекту можно вводить перорально тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию в суточной дозе тартрата примерно 20-100 мг, необязательно примерно 25-75 мг, например, примерно 50 мг.

Любой из раскрытых здесь способов может включать один или несколько курсов лечения, каждый из которых состоит примерно из 28 дней, и в каждом курсе лечения тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию вводят субъекту ежедневно в течение 21 дня, после чего следует семидневный перерыв в применении препарата.

В других вариантах осуществления субъект, которого лечат любым из способов, описанных в настоящем документе, может иметь гематологический рак, которым может быть хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) или мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (МЛЛ). В некоторых вариантах осуществления субъект ранее прошел один или несколько курсов лечения ХЛЛ или МЛЛ. В некоторых вариантах осуществления, субъект может иметь непереносимость предшествующих терапий или иметь прогрессирующее заболевание после предшествующих терапий. В некоторых примерах, предшествующие терапии могут включать антагонист B-клеточного рецептора, антагонист BCL-2 или их сочетание. В других вариантах осуществления, субъекта нельзя одновременно лечить другой противораковой терапией. В некоторых примерах, субъекту можно перорально вводить тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию в суточной дозе примерно 20-100 мг, необязательно, примерно 25-100 мг тартрата, например примерно 25 мг, примерно 33 мг, примерно 45 мг, примерно 50 мг, примерно 58

мг, примерно 75 мг или примерно 100 мг.

В некоторых примерах способ лечения гемопоэтического рака может дополнительно включать введение субъекту ингибитора BTK, которым может быть ибрутиниб, акалабрутиниб, занубрутиниб и LOXO-305. В одном конкретном примере, ингибитор BTK может быть ибрутинибом. В некоторых примерах, субъект ранее получал лечение ингибитором BTK и прогрессировал на лечении ингибитором BTK. В некоторых примерах, субъекту можно вводить тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию, содержащую таковой в суточной дозе приблизительно 20-100 мг (например, приблизительно 25-75 мг) тартрата, например, примерно 20 мг, примерно 25 мг, примерно 33 мг, примерно 45 мг, примерно 50 мг, примерно 58 мг, примерно 75 мг или примерно 100 мг.

В некоторых вариантах осуществления, любой из описанных здесь способов может включать один или несколько курсов лечения, каждый из которых состоит примерно из 28 дней, и в каждом курсе субъекту вводят тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию, содержащую его, перорально один раз в день в течение 28 дней.

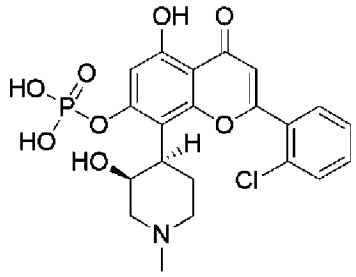
Любой из раскрытых здесь способов может дополнительно включать (a) отслеживание синдрома лизиса опухоли (СЛО) у субъекта; (b) введение субъекту антибиотика, противовирусного агента, противогрибкового агента или их сочетания, или их сочетание.

В некоторых вариантах осуществления, субъект может иметь повышенный уровень растворимого AXL, экспрессии и/или фосфорилирования AXL, гена блокировки роста 6 (GAS6), мезенхимального фактора транскрипции или их сочетания по сравнению с контрольным уровнем растворимого AXL, GAS6 или мезенхимального фактора транскрипции. В некоторых примерах способ может дополнительно включать, перед стадией введения, идентификацию субъекта, имеющего повышенный уровень растворимого AXL, экспрессии и/или фосфорилирования AXL, гена блокировки роста 6 (GAS6), мезенхимального фактора транскрипции или их сочетания относительно контрольного уровня растворимого AXL, GAS6 или мезенхимального фактора транскрипции. В некоторых примерах, стадия идентификации может проводиться путем получения образца периферической крови или образца костного мозга субъекта-кандидата и измерения уровня растворимого AXL, уровня GAS6, уровня мезенхимального фактора транскрипции или их сочетания в образце периферической крови или образце костного мозга.

Любой из описанных здесь способов может дополнительно включать, после стадии введения, обследование субъекта на один или несколько симптомов диареи, тошноты, рвоты, дисгевзии, анемии и тромбоцитопении. Кроме того, способ может дополнительно включать снижение суточной дозы тартрата или прекращение лечения при обнаружении одного или нескольких симптомов.

В некоторых вариантах осуществления, раскрытый в данном документе способ

может дополнительно включать введение субъекту эффективного количества одного или нескольких терапевтических агентов. Один или несколько терапевтических агентов могут содержать один или несколько ингибиторов тирозинкиназы. В некоторых примерах, один или несколько ингибиторов тирозинкиназы могут включать ингибитор EGFR. В других примерах, один или несколько терапевтических агентов могут включать ингибитор иммунных контрольных точек, например ингибитор PD-1 или PD-L1. Примеры ингибиторов PD-1 включают, но не ограничиваются ими, пембролизумаб, ниволумаб или их сочетание. Примеры ингибиторов PD-L1 включают, но не ограничиваются ими, атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб или их сочетание. Альтернативно или в дополнение, один или несколько терапевтических агентов могут содержать ингибитор CDK, например ингибитор CDK9, которым в некоторых случаях может быть альвоцидиб или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство. В некоторых примерах, ингибитором CDK9 является пролекарство альвоцидиба, которое может иметь следующую структуру (II'):

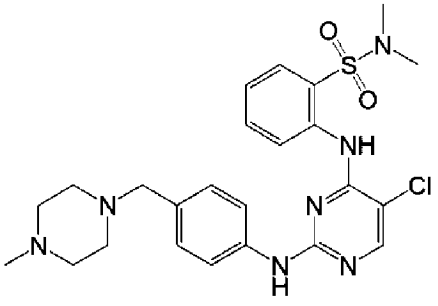


(II), или его фармацевтически приемлемую соль или цвиттерионную форму.

В некоторых примерах, один или несколько терапевтических агентов включают химиотерапевтические агенты на основе платины.

Иллюстративные дополнительные терапевтические агенты, которые могут использоваться в комбинации с соединением структуры (I) или его фармацевтически приемлемой солью (например, любым из тартратов, раскрытых в данном документе), могут включать карбоплатин, гемцитабин, бевацизумаб, топотекан, рукапариб, олапариб, нирапариб, ниволумаб, пембролизумаб, атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб, ипилимумаб или их сочетание.

В еще одном аспекте настоящее раскрытие представляет способ, включающий введение эффективного количества соединения структуры (I):

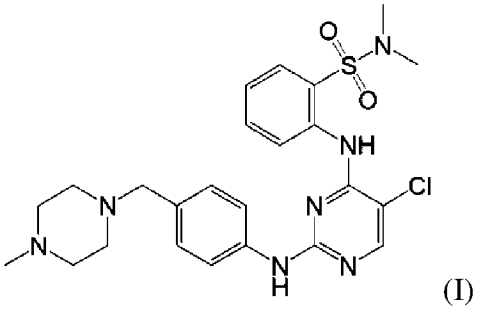


(I)

или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, нуждающемуся в этом, где

рак выбран из группы, состоящей из EGFR+ немелкоклеточного рака легкого; BRAF-, KRAS- или NRAS-мутированной колоректальной карциномы; трудноизлечимой или рецидивирующей карциномы яичников; BRAF-мутированной меланомы, воспалительного рака молочной железы и трижды негативного рака молочной железы. В некоторых вариантах осуществления, у субъекта могло наблюдаться прогрессирование заболевания после получения одной или нескольких предшествующих противораковых терапий. Например, рак представляет собой резистентный, трудно поддающийся лечению, вторичный или рецидивирующий рак. В некоторых вариантах осуществления, один или несколько предшествующих видов лечения рака включают гормональный терапевтический агент, химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент или ингибитор поверхностноклеточного рецептора.

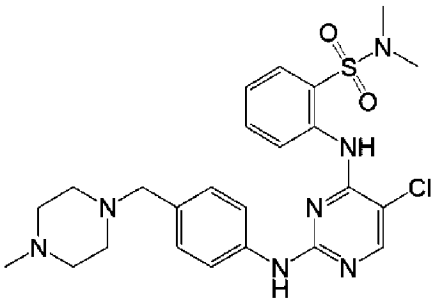
Кроме того, в настоящем раскрытии представлен способ лечения рака, включающий введение эффективного количества соединения структуры (I):



(I)

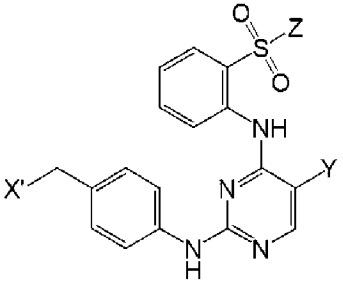
или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, нуждающемуся в этом, где субъект страдает прогрессирующим солидным раком или гемопоэтическим раком, где субъект демонстрирует прогрессирование заболевания после химиотерапии, иммунотерапии или их сочетания. Субъект, которого лечат этим способом, может иметь любую из солидных опухолей или гемопоэтических злокачественных опухолей, как раскрыто здесь. В некоторых вариантах осуществления, химиотерапия или иммунотерапия может включать гормональный терапевтический агент, химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент или ингибитор поверхностноклеточного рецептора, например, описанные здесь. В некоторых вариантах осуществления, субъект устойчив к иммунотерапии, и при этом способ дополнительно включает введение субъекту такой же иммунотерапии. В некоторых вариантах осуществления, субъект устойчив к химиотерапии, включающей ИТК, и при этом способ дополнительно включает введение субъекту такой же химиотерапии.

Кроме того, в настоящем документе представлен способ получения соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли. Способ может включать взаимодействие соединения, имеющего следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли, где:

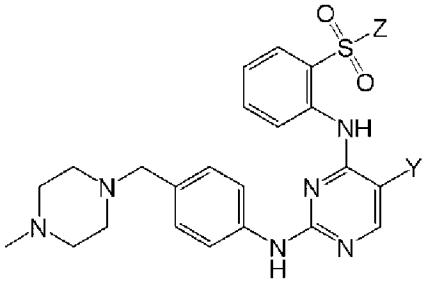
X’ является уходящей группой;

Y является галогеном;

Z является галогеном или -$NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

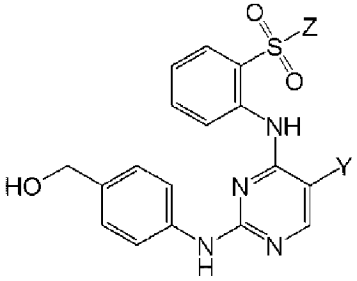
с N-метилпиперазином или его солью с получением соединения, имеющего следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления, способ может дополнительно включать стадию:

взаимодействия соединения, имеющего следующую структуру:



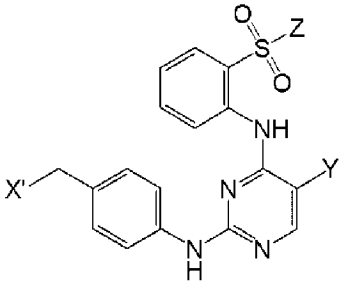
или его фармацевтически приемлемой соли, где:

Y является галогеном;

Z является галогеном или -$NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

с активирующим агентом для получения соединения, имеющего структуру:

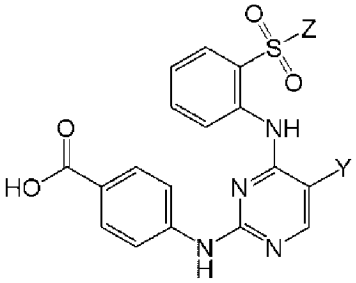


или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления, активирующий агент содержит функциональную группу сульфонилхлорида. В некоторых вариантах осуществления, X' является галогеном или сульфонатом (например, хлором). Альтернативно или дополнительно, активирующим агентом является тионилхлорид.

В некоторых вариантах осуществления, способ может дополнительно включать стадию:

взаимодействия соединения, имеющего следующую структуру:



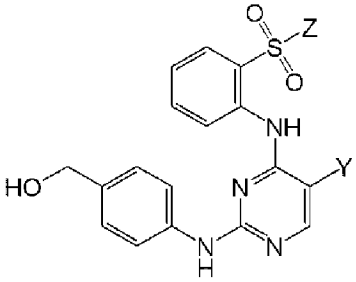
или его фармацевтически приемлемой соли, где:

Y является галогеном;

Z является галогеном или -$NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

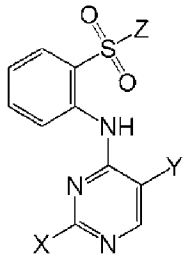
с восстанавливающим агентом для получения соединения, имеющего структуру:



В некоторых примерах восстанавливающим агентом является алюмогидрид лития, диборан, боргидрид натрия, боран или их сочетание. В одном конкретном примере, восстанавливающим агентом является боран.

Любой из раскрытых здесь способов может дополнительно включать:

взаимодействие соединения, имеющего следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли, где:

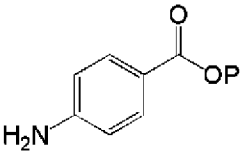
X является уходящей группой;

Y является галогеном;

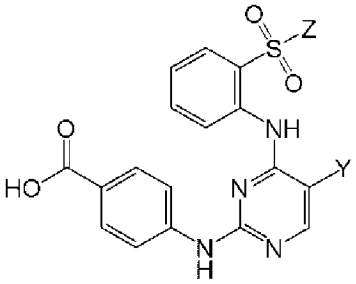
Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

с соединением, имеющим следующую структуру:



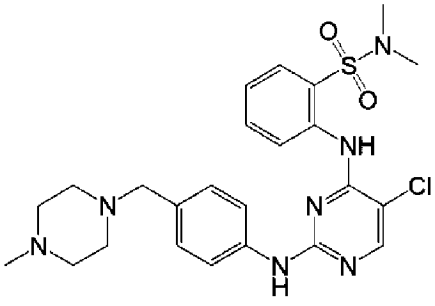
где P является H или защитной группой, с получением соединения, имеющего следующую структуру:



.

В некоторых вариантах осуществления X может быть галогеном или сульфонатом (например, хлором). Альтернативно или дополнительно, P может быть H; Y может быть хлором; Z может быть $-NR^1(R^2)$; R^1 может быть C_1-C_8алкилом (например, метилом); и/или R2 может быть C_1-C_8 алкилом (например, метилом).

В еще одном аспекте настоящее изобретение представляет способ получения тартрата соединения структуры (I):



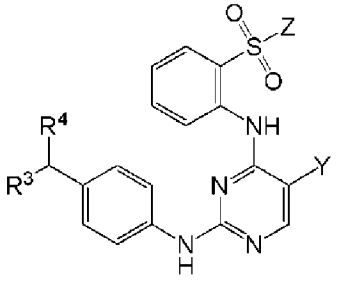
(I)

Способ может включать смешивание соединения структуры (I) с винной кислотой. В некоторых примерах винная кислота может быть L-(+)-винной кислотой. В некоторых

вариантах осуществления, тартрат имеет кристаллическую форму A и способ включает: (a) растворение соединения структуры (I) в растворителе, содержащем анизол и этанол, с получением первого раствора; (b) добавление раствора (L)-винной кислоты в этаноле к первому раствору с получением второго раствора; и (c) кристаллизацию тартрата структуры (I) из второго раствора.

В некоторых вариантах осуществления, растворитель со стадии (a) может содержать анизол и этанол в соотношении примерно 2,5:1 (масс./масс.) и/или иметь температуру примерно 70°C. В некоторых примерах молярное отношение (L)-винной кислоты на стадии (b) к соединению структуры (I) на стадии (a) составляет примерно 2:1 и/или где раствор винной кислоты добавляют к первому раствору в течение примерно часа. В любом из описанных здесь способов, второй раствор охлаждают примерно до 20°C и/или перемешивают в течение примерно 5 часов.

Также в объем настоящего раскрытия входит соединение, имеющее следующую структуру (III):



(III)

или его фармацевтически приемлемая соль, стереоизомер или таутомер, где:

Y является галогеном;

Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$;

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

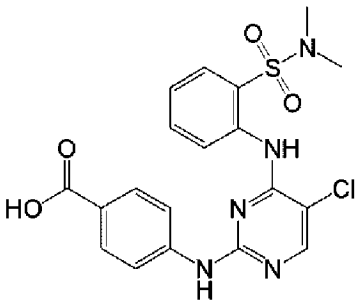
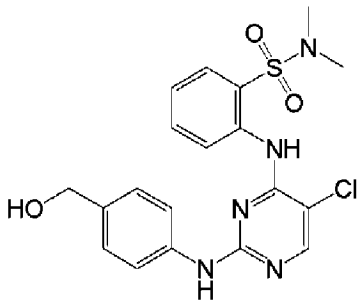
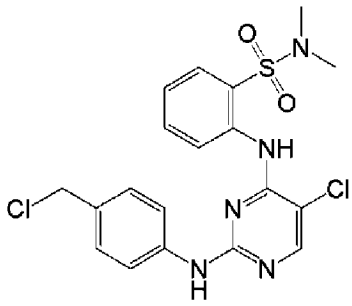
R^3 является галогеном или OR^a;

R^4 является водородом или оксо; и

R^a является водородом или C_1-C_8 алкилом.

В некоторых вариантах Y может быть хлором; Z может быть NR^1 (R^2), в котором R^1 и R^2 в некоторых случаях могут быть C_1-C_8 алкилом (например, метилом); и/или R^3 может быть OR^a, в котором R^a может быть H в некоторых случаях. В некоторых примерах R^3 может быть галогеном (например, хлором). В некоторых примерах R^4 может быть водородом. В других примерах R^4 может быть оксо.

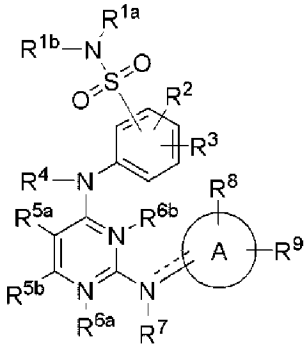
В некоторых вариантах осуществления соединение может иметь одну из следующих структур:

;

или

Кроме того, в настоящем описании представлено соединение, имеющее следующую структуру (I):



(I)

или его стереоизомер, фармацевтически приемлемая соль, таутомер или пролекарство,

где:

A является 6-членным ароматическим кольцом или 6-членным карбоциклическим кольцом;

R^{1a} и R^{1b} каждый независимо является H, C_1-C_6 алкилом или -OH;

R^2 и R^3, каждый независимо является H, C_1-C_6алкилом или галогеном;

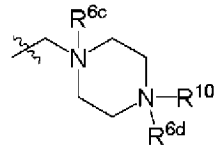
R^4 является H, C_1-C_6алкилом или -OH;

R^{5a} и R^{5b} каждый независимо является H, C_1-C_6алкилом или галогеном;

Каждый из R^{6a}, R^{6b}, R^{6c} и R^{6d} независимо отсутствует или является -O-;

R^7 является H, C_1-C_6алкилом, -OH или отсутствует;

R^8 отсутствует или имеет следующую структуру:



;

R^9 отсутствует или является алкенилом при условии, что присутствует, по меньшей мере, один из R^8 или R^9;

R^{10} является H или C_1-C_6алкилом; и

----- является двойной или одинарной связью; и

все валентности удовлетворены;

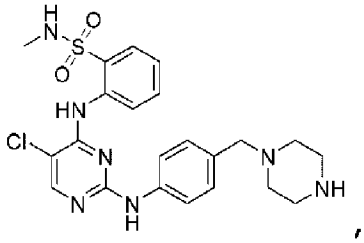
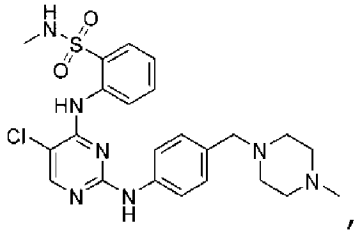
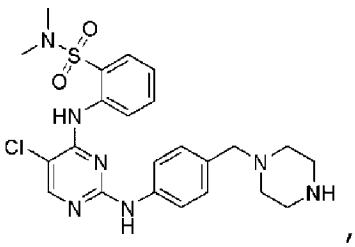
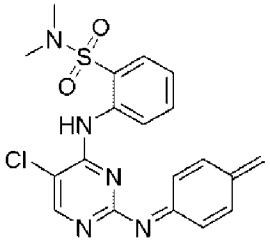
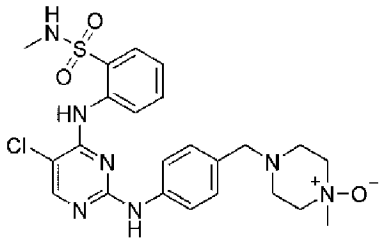
при условии, что если R^{1a} и R^{1b} оба являются метилом, то:

а. по меньшей мере, один из R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d} и R^9 является -O;

б. R^7 является C_1-C_6алкилом, -OH или отсутствует; и/или

с. R^{10} является H.

В некоторых вариантах осуществления соединение может быть одним из следующих:

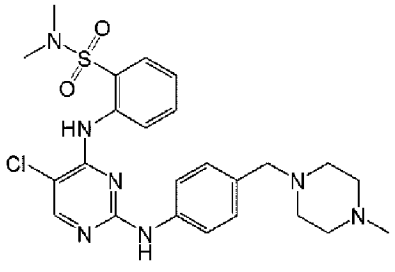

,

,

,

или


или их фармацевтически приемлемыми солями.

Кроме того, настоящее описание представляет фармацевтическую композицию, содержащую любое из соединений, раскрытых в данном документе, или их стереоизомер, фармацевтически приемлемую соль, таутомер или пролекарство, а также фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент.

Также в объем настоящего раскрытия входит способ лечения рака у субъекта, где способ включает введение эффективного количества любого из соединений, раскрытых в данном документе, или его стереоизомера, фармацевтически приемлемой соли, таутомера или пролекарства, или фармацевтической композиции, также раскрытой здесь.

Кроме того, в настоящем документе представлен способ определения метаболического профиля субъекта, включающий: контакт популяции клеток субъекта с терапевтическим агентом; и определение концентрации первого метаболита, которым является любое из соединений, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления, терапевтическим агентом может быть соединение, имеющее следующую структуру (VI):


(IV),

или его фармацевтически приемлемая соль или кристаллическая форма. В некоторых вариантах осуществления, раком является меланома (например, метастатическая меланома), рак молочной железы (например, воспалительный рак

молочной железы и/или тройной негативный рак молочной железы) или опухоль мозга (например, мультиформная глибластома (МФГ)). В некоторых вариантах осуществления, у субъекта наблюдается прогрессирование, повторное возникновение или рецидив заболевания после лечения иммунотерапией.

Раскрытый здесь способ может дополнительно включать введение субъекту иммунотерапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления иммунотерапией является ингибитор контрольной точки или ингибитор CTLA-4. Например, иммунотерапевтическим средством является пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления, способ можно осуществлять при одном или нескольких условиях, раскрытых в данном документе.

Подробности одного или нескольких вариантов осуществления изобретения изложены в описании ниже. Другие особенности или преимущества настоящего изобретения будут очевидны из следующих чертежей и подробного описания нескольких вариантов осуществления, а также из прилагаемой формулы изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

На чертежах, идентичные ссылочные номера обозначают аналогичные элементы. Размеры и взаимное расположение элементов на чертежах не обязательно изображены в масштабе, и некоторые из этих элементов увеличены и расположены так, чтобы улучшить читаемость чертежей. Кроме того, конкретные формы элементов в том виде, в каком они изображены, не предназначены для передачи какой-либо информации, касающейся фактической формы конкретных элементов, и были выбраны исключительно для простоты распознавания на чертежах.

Фиг. 1 иллюстрирует результаты ФК сравнения солей соединения структуры (I).

Фиг. 2 показывает среднюю концентрацию в плазме соединения структуры (I) при введении в виде свободного основания и в виде тартрата.

Фиг. 3 представляет данные о жизнеспособности клеток для сочетаний ингибитора CDK и ингибитора AXL киназы в клетках DOHH2.

Фиг. 4 показывает дополнительную жизнеспособность клеток для сочетаний ингибитора CDK и ингибитора AXL киназы в клетках HCT-116.

Фиг. 5 показывает увеличение количества активных ДК в опухолях после введения ингибитора AXL киназы.

Фиг. 6A показывает объем опухоли, и фиг.6B показывает массу тела после лечения ингибитором AXL киназы и PD-L1 антителом в синграфте рака молочной железы 4T-1 у мышей.

Фиг. 7 показывает объем опухоли после лечения ингибитором AXL киназы и PD1 антителом, с лучевой терапией или без нее, на модели рака груди у мышей.

Фиг. 8 показывает объем опухоли после лечения ингибитором AXL киназы и PD1 антителом, с лучевой терапией или без нее, на модели меланомы мыши.

Фиг. 9 показывает объем опухоли после лечения ингибитором AXL киназы и PD1 антителом на модели колоректального рака у мышей.

Фиг. 10 показывает объем опухоли после лечения ингибитором AXL киназы и PD1 антителом на модели рака легких у мышей.

Фиг. 11 показывает активность соединения структуры (I) в сингенной модели рака груди у мышей. Фиг. 11A показывает объемы опухолей, а фиг. 11B показывает массу тела исследуемых животных.

Фиг. 12 показывает объем опухоли после лечения ингибитором AXL киназы и ингибитором EGFR в модели рака легких с мутацией EGFR.

Фиг. 13 показывает объем опухоли после лечения ингибитором AXL киназы и двумя разными ингибиторами EGFR в модели рака легких с мутацией EGFR.

Фиг. 14 показывает уровни экспрессии белка pAXL и общего AXL.

Фиг. 15A и 15B показывают изменения экспрессии маркера EMT после обработки соединением структуры (I).

Фиг. 16A и 16B показывают действие обработки соединением структуры (I) на миграцию клеток Panc-1 или Aspc-1.

Фиг. 17A и 17B показывают действие лечения соединением структуры (I) в сочетании с эрлотинибом на модели ксенотрансплантата рака легких in vivo.

Фиг. 18A и 18B показывают действие лечения соединением структуры (I) в сочетании с эрлотинибом на модели ксенотрансплантата рака легких in vivo.

Фиг. 18C и 18D показывают соединение структуры (I) и активность EGFRi в колонии клеток H1650 НМКРЛ. Клетки H1650 инкубировали в присутствии указанных лекарственных средств в течение 72 часов, после чего жизнеспособность клеток оценивали с использованием реагента CellTiter-Glo в соответствии с протоколом производителя. Клетки H1650, обработанные отдельными агентами (IC50): соединением структуры (I) (35,9 нМ), эрлотинибом (9,9 мкМ) или осимертинибом (2,2 мкМ) (фиг. 18C). Клетки H1650 обрабатывали сочетаниями соединения структуры (I) и эрлотиниба (фиг. 18D).

Фиг. 18E и 18F показывают активность сочетания соединения структуры (I) и эрлотиниба в модели ксенотрансплантата H1650. Мышам, несущим ксенотрансплантат опухоли H1650, ежедневно вводили через желудочный зонд либо соединение структуры (I) (40 мг/кг), либо эрлотиниб (20 мг/кг), либо их сочетание. Объем опухолей и массу тела оценивали дважды в неделю.

Фиг. 18G и 18H показывают активность сочетания соединения структуры (I) и осимертиниба в модели ксенотрансплантата H1650. Мышам, несущим ксенотрансплантат опухоли H1650, ежедневно вводили через желудочный зонд соединение структуры (I) (40 мг/кг), осимертиниб (20 мг/кг) или их сочетание. Объем опухолей и массу тела оценивали дважды в неделю.

Фиг. 19A и 19B показаны анализы эфероцитоза, исследующие действие обработки соединением структуры (I) на клетки THP-1, обработанные сложным эфиром форбола (PMA) (индукция макрофагов).

Фиг. 20 показывает уровни RA в CYP26A1 мРНК в клетках, обработанных

соединением структуры (I).

Фиг. 21A и 21B показывают экспрессию CYP26A1 мРНК в клетках MV4-11.

Фиг. 22A и 22B показывают AXL ко-иммунопреципитаты с ассоциированным с импортом RA геном, Stra6.

Фиг. 23 показывает уровни белка pAXL и общего AXL.

Фиг. 24 показывает ингибирование соединением структуры (I) базальной экспрессии CYP26A1.

Фиг. 25 показывает изменения экспрессии CYP26A1 за 24 часа.

Фиг. 26 показывает экспрессию CYP26A1 в клетках, обработанных R428.

Фиг. 27 показывает изменения экспрессии CYP26A1 и внутриклеточных уровней RA.

Фиг. 28 показывает, что соединение структуры (I) влияет на экспрессию множества генов, участвующих в синтезе и метаболизме RA.

Фиг. 29 показывает выбранный список генов, которые отвечают на RA, и соединение структуры (I).

Фиг. 30A и 30B показывают экспрессию CYP26A1 мРНК в MV4-11 (фиг. 30A) и A549 (фиг. 30B) клетках.

Фиг. 31 показывает экспрессию белка CYP26A1 в клетках A549, обработанных RA.

Фиг. 32 показывает изменения экспрессии CYP26A1 в течение 72 часов при обработке низкими дозами соединения структуры (I).

Фиг. 33 показывает изменения экспрессии CYP26A1 в течение 24 часов для клеток MV4-11, обработанных R428.

Фиг. 34A-34D показывают исследования ксенотрансплантатов MV4-11 (фиг. 34A/34B) и A549 (фиг. 34C/34D).

Фиг. 35 показывает фотографию, на которой показаны изменения экспрессии CYP26A1 in vivo до и после лечения.

Фиг. 36 показывает диаграмму, показывающую кратные изменения CYP26 в опухолях с течением времени у мышей, получавших соединение структуры (I), по сравнению с необработанными мышами.

Фиг. 37 показывает диаграмму, показывающую кратные изменения CYP26 в печени с течением времени у мышей, получавших соединение структуры (I), по сравнению с необработанными мышами.

Фиг. 38-40 показывают уровни GAS6 в сыворотке (фиг. 38); и GAS6 и AXL (фиг. 39 и 40) в следующее время: Цикл 1/день 1 перед дозированием («C1D1 PRE») и через 2 и 24 часа после введения дозы («C1D1 2» и «C1D1 24», соответственно) и цикл 1/день 8 перед дозированием («C1D8 PRE»).

Фиг. 41 показывает уровни AXL и GAS6 в плазме на двадцатый день (собранные через четыре часа после дозирования) лечения соединением структуры (I) в модели ксенотрансплантата колоректального рака, полученного от пациента.

Фиг. 42 показывает уровни экспрессии мРНК маркеров эпителиально-

мезенхимального перехода на 20-й день лечения соединением структуры (I) в модели ксенотрансплантата колоректального рака, полученного от пациента.

Фиг. 43 показsывает уровни экспрессии мРНК маркеров эпителиально-мезенхимального перехода на 27 день (одна неделя после последнего дозирования) лечения соединением структуры (I) в модели ксенотрансплантата колоректального рака, полученного от пациента.

Фиг. 44 показывает уровни экспрессии мРНК маркеров активированных дендритных клеток (CD86 и CD11c) на 20-й день (верхняя панель) и 27-й день (одна неделя после последнего дозирования, нижняя панель) лечения соединением структуры (I) в модели ксенотрансплантата колоректального рака, полученного от пациента.

Фиг. 45A показывает исходные уровни AXL в сыворотке от пациентов с прогрессирующим заболеванием (PD) по сравнению со стабильным заболеванием (SD).

Фиг. 45B показывает исходные уровни AXL в сыворотке от пациентов с прогрессирующим заболеванием (PD) по сравнению со стабильным заболеванием (SD).

Фиг. 46A показывает исходные уровни GAS6 в сыворотке пациентов с PD по сравнению с SD.

Фиг. 46B показывает исходные уровни GAS6 в сыворотке пациентов с PD по сравнению с SD.

ФИГ. 47A-47C показывают чувствительность регуляторных Т-клеток к соединению структуры (I).

Фиг. 48 показывает общее количество инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL), обнаруженных в образцах, обработанных носителем или 25 миллиграммами (мг)/килограмм (кг) соединения структуры (I).

Фиг. 49 показывает дендритные клетки, обнаруженные в образцах из модели 4T1, обработанных носителем или 25 мг/кг соединения структуры (I).

Фиг. 50 показывает макрофаги, обнаруженные в образцах из модели 4T1, обработанных носителем или 25 мг/кг соединения структуры (I).

Фиг. 51 показывает нейтрофилы, обнаруженные в образцах из модели 4T1, обработанных носителем или 25 мг/кг соединения структуры (I).

Фиг. 52 показывает естественные клетки-киллеры (NK), обнаруженные в образцах из модели 4T1, обработанных носителем или 25 мг/кг соединения структуры (I).

Фиг. 53 показывает регуляторные Т-клетки (Treg), обнаруженные в образцах из модели 4T1, обработанных носителем или 25 мг/кг соединения структуры (I).

Фиг. 54 показывает истощенные CD8 Т-клетки, обнаруженные в образцах из модели 4T1, обработанных носителем или 25 мг/кг соединения структуры (I).

Фиг. 55 показывает комбинированное действие соединения структуры (I) и анти-PD-1 в модели 4T1.

Фиг. 56A и 56B показывают противоопухолевое действие соединения структуры (I) в сочетании с PD-1 у мышей с деплецией CD8+T.

Фиг. 57 показывает действие соединения структуры (I) на иммунные клетки в

селезенке (изображенные как общее количество клеток в селезенке на 16 день).

Фиг. 58A и 58B показывают действие соединения структуры (I) на иммунные клетки в опухолях (изображенные как клетки/мг опухоли на 11 день).

Фиг. 59 показывает действие соединения структуры (I) на экспрессию генов цитокинов и хемокинов в опухолях.

Фиг. 60 показывает динамику регуляции цитокинов и хемокинов в опухолях после лечения соединением структуры (I).

Фиг. 61A иллюстрирует рентгеновскую дифрактограмму, полученную в результате анализа ПРД кристаллической формы A.

Фиг. 61B иллюстрирует ^{1}H ЯМР спектр кристаллической формы A.

Фиг. 61C иллюстрирует ^{1}H ЯМР спектр кристаллической формы A'.

Фиг. 62A иллюстрирует рентгеновскую дифрактограмму, полученную в результате анализа ПРД кристаллической формы B.

Фиг. 62B иллюстрирует ^{1}H ЯМР спектр кристаллической формы B.

Фиг. 63A иллюстрирует рентгеновскую дифрактограмму, полученную в результате анализа ПРД для полиморфной формы D.

Фиг. 63B иллюстрирует ^{1}H ЯМР спектр кристаллической формы D.

ФИГ. 64 показывает график ТГА и ДСК, полученный для кристаллической Формы A.

ФИГ. 65 показывает сравнение между формой B (вверху) и формой A (внизу).

Фиг. 66 показывает действие на жизнеспособность клеток ES-2, обработанных соединением структуры (I).

Фиг. 67 показывает результаты различных концентраций соединения структуры (I) на нескольких колониях клеток рака яичников, устойчивых к химиотерапии (верхняя правая и верхняя левая панели), а также результаты сравнительного тестирования соединения структуры (I), кабозантиниба, и форетиниба на жизнеспособность клеток опухоли яичников в устойчивой к платине колонии клеток Kuramochi (нижняя панель).

Фиг. 68 сравнивает действие соединения структуры (I) и кабозантиниба на уровни фосфо-AXL (Y702) в устойчивой к платине колонии клеток Kuramochi.

Фиг. 69 показывает результаты эпителиально-мезенхимальных (ЭМП) маркеров, которые были количественно определены анализом экспрессии мРНК через два часа после обработки соединением структуры (I) в различных концентрациях.

Фиг. 70 показывает результаты эпителиально-мезенхимальных (ЭМП) маркеров, которые были количественно определены анализом экспрессии мРНК через двадцать четыре часа после обработки соединением структуры (I) в различных концентрациях.

Фиг. 71 показывает уровни экспрессии белка, измеренные для ЭМП маркеров Snail и Slug после обработки соединением структуры (I) в различных концентрациях.

Фиг. 72 показывает действие соединения структуры (I) и BMS-777607 на миграцию опухолевых клеток яичников в анализе методом зарастания царапин.

Фиг. 73 показывает окружность мышей после лечения и типовую фотографию

мыши в каждой группе лечения, как описано в Примере 33.

Фиг. 74 показывает график массы тела мышей после лечения, как описано в Примере 33.

Фиг. 75 показывает результаты панели хемокинов и цитокинов, измеренных после обработки мышей с ксенотрансплантатом ES-2 соединением структуры (I).

Фиг. 76 показывает уровни экспрессии мРНК EMT маркеров, анализированные в асцитной жидкости после обработки соединением структуры (I).

Фиг. 77 показывает уровни растворимых AXL, GAS6 и PD-L1 в крови после обработки 25 мг/кг или 50 мг/кг соединения структуры (I), как описано в Примере 33.

Фиг. 78 показывает относительные уровни AXL, GAS6 и PD-L1 в крови у мышей по сравнению с человеком после обработки, описанной в примере 33.

Фиг. 79 показывает типовую фотографию мыши, получавшей соединение структуры (I), по сравнению с контролем-носителем (вверху слева), массу тела обработанных мышей, окружность живота обработанных мышей, объем восстановленного асцита и процент выживаемости для мышей, получавших лечение, как описано в Примере 37.

Фиг. 80 показывает результаты вестерн-блоттинга для тубулина, общего и фосфорилированного AXL на сайте Y702, а также относительного фосфорилирования AXL мышей, которым ввели клетки ES-2, по сравнению с контрольной группой, как описано в Примере 37.

Фиг. 81 показывает окружность живота и массу тела мышей с опухолью по сравнению с мышами без опухоли для мышей, получавших лечение, как описано в Примере 39.

Фиг. 82 показывает объем асцита и типовые фотографии мышей, получавших лечение в исследовании, описанном в примере 39, где мыши без опухолей показаны слева, и мыши с опухолями показаны справа.

Фиг. 83 показывает результаты обработки клеток различными дозами соединения структуры (I), как описано в Примере 40.

Фиг. 84 показывает окружность мышей с ксенотрансплантатом A2780cis через 5-25 дней после имплантации, как описано в Примере 40.

Фиг. 85 показывает массу тела мышей с ксенотрансплантатом A2780cis через 5-25 дней после имплантации, как описано в Примере 40.

Фиг. 86 показывает типовые фотографии мышей в исследовании на 25 день после лечения, как описано в Примере 40.

Фиг. 87 показывает уровни экспрессии генов в опухолях мышей с ксенотрансплантатом A2780cis, как описано в Примере 40.

Фиг. 88 показывает уровни экспрессии белка, которые были измерены в вестерн-блоттинге для Snail и β-актина в качестве контроля нагрузки после лечения соединением структуры (I), как описано в Примере 40.

Фиг. 89 показывает экспрессию Axl в сыворотке человека, как описано в Примере

40.

Фиг. 90-92 показывают репрезентативные данные для концентраций соединения IV в плазме в день 1 и день 21 для субъектов, которым в течение 21 дня подряд вводили дозу соединения VI.

Фиг. 93 показывает данные по соединению VI и активному метаболиту, собранные и показанные в виде значений площади под кривой (ППК) в день 1 и день 21 дозирования соединения VI в течение 21 дня подряд.

Фиг. 94 показывает пики ПРД, характерные для Формы B.

Фиг. 95 показывает кривые ТГА/ДСК Формы B.

Фиг. 96 показывает пики ПРД, характерные для формы D.

Фиг. 97 показывает кривые ТГА/ДСК формы D.

Фиг. 98A показывает сравнение дифрактограмм ПРД кристаллических форм A, B и C.

Фиг. 98B показывает сравнение дифрактограмм ПРД кристаллических форм D, E, F, G, H и I.

Фиг. 99A-99I показывает термические характеристики (диаграммы ДСК/ТГА) кристаллических форм от A до I.

Фиг. 100 показывает общую схему, показывающую, как соединение структуры (I) претерпевает метаболическое превращение в ряд видов.

Фиг. 101A-101E показывают спектр ^{1}H (протонный) ЯМР для метаболитов M2, M3, M4, M6 и M7.

Фиг. 102A-102B показывают относительные количества активных метаболитов через 21 день в двух разных группах.

Фиг. 103A-103D показывает спектры ^{1}H (протонного) ЯМР для промежуточных соединений в синтезе соединения структуры (I).

Фиг. 104A-104B иллюстрируют, что соединение структуры (I) ингибирует рост клеток колоний клеток колоректальной карциномы (КРК) независимо от статуса мутации KRAS. Фиг. 104A показывает статус мутации KRAS выбранных колоний клеток КРК. На фигуре 104B показано определение жизнеспособности клеток КРК после 72-часовой обработки соединением структуры (I) и оценка с помощью CellTiter-Glo. Соединение структуры (I) продемонстрировало эффективность, не зависящую от статуса мутации KRAS, с IC50 между 4,5 нМ и 123 нМ.

Фиг. 105A-105B показывает, что соединение структуры (I) подавляет мезенхимальные маркеры без модуляции эпителиальных маркеров. Клетки HCT-116 обрабатывали указанными концентрациями ингибиторов AXL: R428, RXDX-106 и соединением структуры (I) в течение 24 часов. На фиг. 105A показано, что уровни экспрессии мРНК были определены количественно с помощью RT-кПЦР. Фиг. 105B показывает, что уровни экспрессии белка анализировали с помощью вестерн-блоттинга. Экспрессия Snail подавлялась в 7,6 раза (м-РНК) и в 4,9 раза (белок) с помощью 500 нМ соединения структуры (I).

Фиг. 106A-106C показывают, что соединение структуры (I) ингибирует рост опухоли в модели ксенотрансплантата мутанта KRAS HCT-116. Безтимусным голым мышам вводили в задний бок 10 миллионов клеток и разделяли на группы по 10 мышей. Соединения готовили в 5% (масс./об.) TPGS и 1% (об./об.) PS80 в H_2O и вводили через желудочный зонд. Объем опухолей (фиг. 106A) и массу тела измеряли дважды в неделю (фиг. 106B). Внутриопухолевую экспрессию GAS6 количественно оценивали с помощью RT-кПЦР. Группа 40 мг/кг соединения структуры (I) достигла 69% ИРО без побочных эффектов (фиг. 106C).

Фиг. 107A-107B показывают, что соединение структуры (I) ингибирует рост опухоли в модели КРК PDX мутанта KRAS. Бестимусным мышам Balb/c имплантировали 2-3-миллиметровые фрагменты первичных опухолей КРК человека и затем делили на группы по 10 мышей. Соединение структуры (I) готовили в 5% (масс./об.) TPGS и 1% (об./об.) PS80 в H_2O и вводили через желудочный зонд. Объем опухоли (фиг. 107A) и вес тела (фиг. 107B) измеряли дважды в неделю. Группа 40 мг/кг соединения структуры (I) достигла 44% ИРО без побочных эффектов.

Фиг. 108A-108E показывают, что соединение структуры (I) подавляет концентрации sAXL/sGAS6 при подавлении регулируемых Wnt/β-катенином генов Axin2/CCND1 в модели КРК PDX мутанта KRAS. sAXL (фиг. 108A) и sGAS6 (фиг. 108B) были количественно определены в сыворотке с помощью ELISA. Внутриопухолевые GAS6 (фиг. 108C), Axin2 (фиг. 108D) и CCND1 (фиг. 108E) были количественно определены с помощью RT-кПЦР. Анализы проводились на мышах, получавших лечение в течение 27 дней (кроме Axin2; 21 день). Подавление sAXL и sGAS6 указывает на изменение ЭМП. Медиированная соединением структуры (I) отрицательная регуляция генов, связанных с Wnt/β-катенином, дополнительно подтверждает ранее описанную роль AXL в стабилизации β-катенина.

Фиг. 109 показывает положительную корреляцию между sAXL/sGAS6 и объемом опухоли в модели КРК PDX с мутантным KRAS, идентифицирующую их как потенциальные биомаркеры прогрессирования заболевания. Концентрации растворимых веществ определяли количественно в сыворотке каждой мыши с помощью ELISA с последующим линейным регрессионным анализом. Статистическая значимость для каждой корреляции: sAXL и объем опухоли ($P<0,005$); sGAS6 и объем опухоли ($P<0,0005$).

Фиг. 110A-110B показывают экспрессию маркера EMT в клетках НМКРЛ, обработанных соединением структуры (I). Клетки H1650 (фиг. 110A) и A549 (фиг. 110B) обрабатывали в течение двух часов соединением структуры (I) в концентрациях до 2 мкМ, после чего экспрессию мРНК Snail and Slug оценивали с использованием стандартной методики кПЦР.

Фиг. 111A-111B показывают экспрессию маркерного белка EMT в обработанных ингибитором AXL клетках H1650 и A549. Клетки H1650 обрабатывали 0,1, 0,5 или 1,0 мкМ соединения структуры (I) или R428 в течение 24 часов, после чего клетки собирали и

оценивали экспрессию E-кадгерина и белка Snail, используя стандартную методику вестерн-иммуноблоттинга (фиг. 111A). Клетки A549 обрабатывали 0,1, 0,5 или 1,0 мкМ соединения структуры (I) или R428 в течение 24 часов, после чего клетки собирали и оценивали экспрессию E-кадгерина и белка Snail с использованием стандартной методики вестерн-иммуноблоттинга (фиг. 111B).

Фиг. 112 показывает экспрессию slug мРНК у мышей с ксенотрансплантатом H1650, обработанных соединением структуры (I). Мышей, несущих опухоль с ксенотрансплантатом H1650, обрабатывали соединением структуры (I) (40 мг/кг) через желудочный зонд, после чего опухоли собирали в различные моменты времени после введения дозы. Экспрессию slug мРНК и E-кадгерина оценивали стандартным методом кПЦР.

Фиг. 113 показывает экспрессию белка snail у мышей с ксенотрансплантатом H1650, обработанных соединением структуры (I). Мышей, несущих опухоль с ксенотрансплантатом H1650, обрабатывали соединением структуры (I) (40 мг/кг) через желудочный зонд, после чего опухоли собирали в различные моменты времени после введения дозы. Экспрессию slug и белка E-кадгерина оценивали стандартным методом иммуноблоттинга.

Фиг. 114 показывает фармакокинетический профиль соединения структуры (I) в модели 4T1. Мышам, несущим 4T1, вводили 60 мг/кг тартрата соединения структуры (I) перорально. Опухоль и кровь собирали в указанные моменты времени.

Фиг. 115 показывает действие соединения структуры (I) на цитокины в сыворотке. Мышам Balb/c трансплантировали клетки 4T1 ортотопически. Через 7 дней после трансплантации вводили тартрат соединения структуры (I) (60 мг/кг, перорально, ОРД). Цельную кровь собирали через 2, 6 и 24 часа после последней дозы на 12-й день. Цитокины в сыворотке измеряли с помощью теста Milliplex. Норма указывает на здоровую мышь без опухоли. n=6 (носитель: n=5, норма: n=3). «Усы» указывают на СО. НД означает «нет данных».

Фиг. 116 показывает изотермы сорбции влаги для форм A', A, B, C и D.

Фиг. 117 показывает сравнение диаграмм ПРД формы A и формы D до и после изотермы сорбции влаги.

Фиг. 118 показывает Рамановские спектры и их данные РСА для формы A и формы B.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

A. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В нижеследующем описании изложены некоторые конкретные детали, чтобы обеспечить полное понимание различных вариантов осуществления изобретения. Однако специалист в данной области поймет, что изобретение может быть реализовано без этих деталей.

Если контекст не требует иного, во всем настоящем описании и формуле изобретения слово «содержать» и его варианты, такие как «содержит» и «содержащий»,

следует толковать в открытом, включительном смысле (*m*.е. как «включающий, но не ограниченный ими»).

Ссылка в данном описании на «один вариант осуществления» или «вариант осуществления» означает, что конкретный признак, структура или характеристика, описанные в связи с вариантом осуществления, включены, по меньшей мере, в один вариант осуществления настоящего изобретения. Таким образом, появление фраз «в одном варианте осуществления» или «в варианте осуществления» в различных местах данного описания не обязательно относится к одному и тому же варианту осуществления. Кроме того, конкретные признаки, структуры или характеристики могут быть объединены любым подходящим образом в одном или нескольких вариантах осуществления.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области, к которой принадлежит это изобретение. Как используется в описании и формуле изобретения, формы единственного числа «a», «an» и «the» включают множественные ссылки, если контекст явно не указывает иное.

«Оксо» относится к заместителю =O.

«Алкил» относится к радикалу углеводородной цепи с прямой или разветвленной цепью, состоящему только из атомов углерода и водорода, который является насыщенным или ненасыщенным (т.е. содержит одну или несколько двойных и/или тройных связей), имеющему от одного до двенадцати атомов углерода (C_1-C_{12} алкил), предпочтительно, от одного до восьми атомов углерода (C_1-C_8 алкил) или от одного до шести атомов углерода (C_1-C_6 алкил), и который присоединен к остальной части молекулы одинарной связью, например, метилу, этилу, н-пропилу, 1-метилэтилу (изопропилу), н-бутилу, н-пентилу, 1,1-диметилэтилу (трет-бутилу), 3-метилгексилу, 2 метилгексилу, этенилу, проп-1-енилу, бут-1-енилу, пент-1-енилу, пента-1,4-диенилу, этинилу, пропинилу, бутинилу, пентинилу, гексинилу и подобным. Алкил включает алкенилы (одна или несколько двойных связей углерод-углерод) и алкинилы (одна или несколько тройных связей углерод-углерод, такие как этинил и подобные). Если в описании конкретно не указано иное, алкильная группа необязательно является замещенной.

«Гало» или «галоген» относится к брому, хлору, фтору или йоду.

Используемый здесь термин «замещенный» означает, что, по меньшей мере, один атом водорода заменен связью с атомами, отличными от водорода, такими как, но не ограничиваясь ими: атом галогена, такой как F, Cl, Br и I; атом кислорода в таких группах, как гидроксильные группы, алкоксигруппы и сложноэфирные группы; атом серы в таких группах, как тиольные группы, тиоалкильные группы, сульфоновые группы, сульфонильные группы и сульфоксидные группы; атом азота в группах, таких как амины, амиды, алкиламины, диалкиламины, ариламины, алкилариламины, диариламины, N-оксиды, имиды и енамины; атом кремния в таких группах, как триалкилсилильные группы, диалкиларилсилильные группы, алкилдиарилсилильные группы и триарилсилильные группы; и другие гетероатомы в различных других группах.

«Замещенный» также означает, что один или несколько атомов водорода заменены связью более высокого порядка (например, двойной или тройной связью) с гетероатомом, таким как кислород, в оксо, карбонильной, карбоксильной и сложноэфирной группах; и азот в таких группах, как имины, оксимы, гидразоны и нитрилы. Например, в некоторых вариантах осуществления «замещенный» означает, что один или несколько атомов водорода заменены на $-NR_gR_h$, $-NR_gC(=O)R_h$, $-NR_gC(=O)NR_gR_h$, $-NR_gC(=O)OR_h$, $-NR_gSO_2R_h$, $-OC(=O)NR_gR_h$, $-OR_g$, $-SR_g$, $-SOR_g$, $-SO_2R_g$, $-OSO_2R_g$, $-SO_2OR_g$, $=NSO_2R_g$ и $-SO_2NR_gR_h$. «Замещенный» также означает, что один или несколько атомов водорода заменены на $-C(=O)R_g$, $-C(=O)OR_g$, $-C(=O)NR_gR_h$, $-CH_2SO_2R_g$, $-CH_2SO_2NR_gR_h$. В вышеизложенном R_g и R_h являются одинаковыми или разными и, независимо, водородом, алкилом, алкокси, алкиламинилом, тиоалкилом, арилом, аралкилом, циклоалкилом, циклоалкилалкилом, галогеналкилом, гетероциклилом, N-гетероциклилом, гетероциклилалкилом, гетероарилом, N-гетероарилом и/или гетероарилалкилом. «Замещенный» далее означает, что один или несколько атомов водорода замещены связью с аминилом, циано, гидроксилом, имино, нитро, оксо, тиоксо, галогеном, алкилом, алкокси, алкиламинилом, тиоалкилом, арилом, аралкилом, циклоалкилом, циклоалкилалкилом, галогеналкилом, гетероциклилом, N-гетероциклилом, гетероциклилалкилом, гетероарилом, N-гетероарилом и/или гетероарилалкилом. Кроме того, каждый из вышеуказанных заместителей также может быть необязательно замещен одним или несколькими из вышеуказанных заместителей.

Термин «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» относится к количеству соединения (например, соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли, такой как тартрат, соединения структуры (I)), описанному в данном документе, которого достаточно для осуществления предполагаемого применения, включая, но не ограничиваясь, лечение заболевания, как определено ниже. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от предполагаемого лечения (in vivo), или лечимого пациента или болезненного состояния, например, массы тела и возраста субъекта, тяжести болезненного состояния, способа введения и подобных, которые могут быть легко определены специалистом в данной области техники. Этот термин также применяется к дозе, которая будет вызывать конкретный ответ в клетках-мишенях, например снижение адгезии тромбоцитов и/или миграции клеток. Конкретная доза будет варьироваться в зависимости от конкретных выбранных соединений, режима дозирования, которого необходимо придерживаться, того, вводится ли соединение в сочетании с другими соединениями, времени введения, ткани, в которую его вводят, и физической системы доставки, в которой он вводится.

«Рак», включая «опухоль», относится к неконтролируемому росту клеток и/или аномальному увеличению выживаемости клеток и/или ингибированию апоптоза, который мешает нормальному функционированию органов и систем организма. «Рак» (например, опухоль) включает солидные и не солидные раки. Субъект, который имеет рак или

опухоль, имеет объективно измеримое количество раковых клеток, присутствующих в теле субъекта. «Раки» включают доброкачественные и злокачественные раки (например, доброкачественные и злокачественные опухоли, соответственно), а также спящие опухоли или микрометастазы.

Рак, который «устойчив» к конкретной терапии, относится к раку, который демонстрирует стойкое заболевание или полную ремиссию в течение менее 6 месяцев после проведения терапии. В некоторых вариантах осуществления субъект, который имеет рак, устойчивый к конкретной терапии, не показывает статистически значимого объективного ответа на терапию. Считается, что субъект находится в «полной ремиссии», если субъект имеет нормальный уровень CA-125 (например, менее 46 ед/мл) и нормальное КТ-исследование. В некоторых вариантах осуществления, рак устойчив к конкретной терапии, если рак прогрессирует во время получения терапии или в течение шести месяцев после последнего введения терапии.

Вторичный рак относится к раку, который появляется на месте, где он был ликвидирован или исчез. Рак, устойчивый к лечению (например, устойчивый к платине), является «вторичным», если рак прогрессировал (например, подтвержден визуализацией), если у субъекта был рецидив в течение шести месяцев после последнего получения лечения. Например, устойчивый к платине рак является вторичным, если у субъекта был рецидив в течение 6 месяцев после последнего приема химиотерапии на основе платины.

Используемый здесь термин «трудно поддающийся лечению» по отношению к субъекту, страдающему ОМЛ, имеет свое обычное значение в данной области и может относиться к субъекту, у которого в костном мозге остаются остаточные лейкозные клетки после лечения, например, в течение одной недели, в течение двух недель, в течение четырех недель или в течение двух месяцев после лечения.

Рак считается «стойким», если он существует или остается в одном и том же состоянии неопределенно долгое время.

Используемый здесь термин «рецидив» имеет свое обычное значение в данной области техники и может относиться к возвращению ОМЛ или к признакам и симптомам ОМЛ после периода полной ремиссии (например, начальной полной ремиссии) в результате лечения. В некоторых вариантах осуществления, рецидив может относиться к рецидиву заболевания после полной ремиссии, которая может быть определена врачом после клинической оценки.

Рак «частично чувствителен» к терапии (например, частично чувствителен к платине), если рак прогрессирует между 6 и 12 месяцами после последнего приема терапии.

Рак «чувствителен» к терапии (например, чувствителен к платине), если рак прогрессирует более чем через 12 месяцев после последнего приема терапии. «Метастазирование» относится к распространению рака из его первичного очага в другие места тела. «Метастазами» являются раки, которые мигрируют из своего первоначального местоположения и засевают жизненно-важные органы, что в конечном итоге может

привести к смерти субъекта из-за функционального ухудшения пораженных органов. Метастазирование является последовательным процессом, при котором раковые клетки могут отделяться от первичной опухоли, проникать в лимфатические и кровеносные сосуды, циркулировать по кровотоку и расти в удаленном очаге (метастазировать) в нормальных тканях в других частях тела. На новом месте клетки обеспечивают кровоснабжение и могут расти, образуя опасную для жизни массу. Метастазированиеы может быть локальным или отдаленным. Как стимулирующие, так и тормозящие молекулярные пути внутри опухолевой клетки регулируют это поведение, и взаимодействия между опухолевой клеткой и клетками-хозяевами в новом участке также имеют большое значение.

Субъект, имеющий, по меньшей мере, «стабильное заболевание», относится к субъекту, имеющему стабильное заболевание, частичный или полный ответ на терапию согласно iRECIST.

Используемые здесь термины «лечение» или «лечить» относятся к подходу для получения полезных или желаемых результатов в отношении заболевания, расстройства или медицинского состояния, включая, но не ограничиваясь, терапевтический эффект и/или профилактический эффект. Под терапевтическим эффектом понимается искоренение или улучшение основного заболевания, которое лечат. Кроме того, терапевтический эффект достигается за счет устранения или облегчения одного или нескольких физиологических симптомов, связанных с основным заболеванием, так что улучшение наблюдается у субъекта, несмотря на то, что субъект все еще может страдать от основного расстройства. В некоторых вариантах осуществления, для профилактического эффекта композиции вводят субъекту с риском развития конкретного заболевания или субъекту, сообщающему об одном или нескольких физиологических симптомах заболевания, даже если диагноз этого заболевания на этот момент не установлен.

Используемый здесь термин «курс лечения» имеет свое обычное значение в данной области и может относиться к одному или нескольким курсам лечения, которые повторяются по регулярному графику, включая периоды отдыха.

«Терапевтический эффект» в том смысле, в котором этот термин используется в данном описании, включает терапевтический эффект и/или профилактический эффект, как описано выше. Профилактический эффект включает отсрочку или устранение появления заболевания или состояния, отсрочку или устранение появления симптомов заболевания или состояния, замедление, остановку или обращение вспять прогрессирования заболевания или состояния или любое их сочетание.

Термин «совместное введение», «вводимый в сочетании с» и их грамматические эквиваленты, используемые в данном документе, охватывают введение двух или более агентов животному, включая человека, так что оба агента и/или их метаболиты присутствуют в субъекте в одно и то же время. Совместное введение включает одновременное введение в отдельных композициях, введение в разное время в отдельных

композициях или введение в композиции, в которой присутствуют оба агента.

«Фармацевтически приемлемая соль» включает кислотно- и основно-аддитивные соли.

«Фармацевтически приемлемая кислотно-аддитивная соль» относится к тем солям, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства свободных оснований, которые не являются нежелательными с биологической или иной точки зрения и которые образуют с неорганическими кислотами, такими как, но не ограничиваясь ими, хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота и подобные, а также органическими кислотами, такими как, но не ограничиваясь ими, уксусная кислота, 2,2-дихлоруксусная кислота, адипиновая кислота, альгиновая кислота, аскорбиновая кислота, аспарагиновая кислота, бензолсульфоновая кислота, бензойная кислота, 4-ацетамидобензойная кислота, камфорная кислота, камфор-10-сульфоновая кислота, каприновая кислота, капроновая кислота, каприловая кислота, карбоновая кислота, коричная кислота, лимонная кислота, цикламиновая кислота, додецилсерная кислота, этан-1,2-дисульфоновая кислота, этансульфоновая кислота, 2-гидроксиэтансульфоновая кислота, муравьиная кислота, фумаровая кислота, галактаровая кислота, гентизиновая кислота, глюкогептоновая кислота, глюконовая кислота, глюкуроновая кислота, глутаминовая кислота, глутаровая кислота, 2-оксоглутаровая кислота, глицерофосфорная кислота, гликолевая кислота, гиппуровая кислота, изомасляная кислота, молочная кислота, лактобионовая кислота, лауриновая кислота, малеиновая кислота, яблочная кислота, малоновая кислота, миндальная кислота, метансульфоновая кислота, слизевая кислота, нафталин-1,5-дисульфоновая кислота, нафталин-2-сульфоновая кислота, 1-гидрокси-2-нафтойная кислота, никотиновая кислота, олеиновая кислота, оротовая кислота, щавелевая кислота, пальмитиновая кислота, памовая кислота, пропионовая кислота, пироглутаминовая кислота, пировиноградная кислота, салициловая кислота, 4-аминосалициловая кислота, себациновая кислота, стеариновая кислота, янтарная кислота, винная кислота (например, L-(+)-винная кислота), тиоциановая кислота, п-толуолсульфоновая кислота, трифторуксусная кислота, ундециленовая кислота и подобные.

«Фармацевтически приемлемая основно-аддитивная соль» относится к тем солям, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства свободных кислот, которые не являются нежелательными с биологической или иной точки зрения. Эти соли получают добавлением неорганического основания или органического основания к свободной кислоте. Соли, полученные из неорганических оснований, включают, но не ограничиваются ими, соли натрия, калия, лития, аммония, кальция, магния, железа, цинка, меди, марганца, алюминия и подобные. Предпочтительными неорганическими солями являются соли аммония, натрия, калия, кальция и магния. Соли, полученные из органических оснований, включают, но не ограничиваются ими, соли первичных, вторичных и третичных аминов, замещенных аминов, включая встречающиеся в природе замещенные амины, циклических аминов и основных ионообменных смол, таких как

аммиак, изопропиламин, триметиламин, диэтиламин, триэтиламин, трипропиламин, диэтаноламин, этаноламин, деанол, 2-диметиламиноэтанол, 2-диэтиламиноэтанол, дициклогексиламин, лизин, аргинин, гистидин, кофеин, прокаин, гидрабамин, холин, бетаин, бенетамин, бензатин, этилендиэтанол, пуркозамин, тро-метиламиноэтанол, троэтилендиэтанол, глюкозамин, пиперазин, пиперидин, N-этилпиперидин, полиаминовые смолы и тому подобное. Особенно предпочтительными органическими основаниями являются изопропиламин, диэтиламин, этаноламин, триметиламин, дициклогексиламин, холин и кофеин.

В некоторых вариантах осуществления, фармацевтически приемлемые соли включают соли четвертичного аммония, такие как соли алкилгалогенида четвертичного амина (например, метилбромид).

«Противораковый агент», «противоопухолевый агент» или «химиотерапевтический агент» относится к любому агенту, полезному для лечения неопластического состояния. Один класс противораковых средств включает химиотерапевтические агенты. «Химиотерапия» означает введение одного или нескольких химиотерапевтических препаратов и/или других агентов больному раком различными способами, включая внутривенный, пероральный, внутримышечный, внутрибрюшинный, внутрипузырный, подкожный, трансдермальный, буккальный или ингаляционный, или в форме суппозиториев.

«Субъект» относится к животному, такому как млекопитающее, например человеку. Описанные здесь способы могут быть полезны как в терапии, так и в ветеринарии. В некоторых вариантах осуществления, субъект является млекопитающим, и в некоторых вариантах осуществления, субъектом является человек.

«Млекопитающее» включает людей и домашних животных, таких как лабораторные животные и домашние животные (например, кошки, собаки, свиньи, крупный рогатый скот, овцы, козы, лошади, кролики), и не домашних животных, таких как дикие животные и подобные.

«Радиационная терапия» означает облучение субъекта с использованием обычных способов и композиций, известных практикующему врачу, излучателями радиации, таким как радионуклиды, излучающие альфа-частицы (например, радионуклиды актиния и тория), излучателями радиации с низкой линейной передачей энергии (ЛПЭ) (т.е. бета-излучателями), излучателями конверсионных электронов (например, стронция-89 и самария-153-EDTMP, или высокоэнергетического излучения, включая, помимо прочего, рентгеновские лучи, гамма-лучи и нейтроны).

«Пролекарство» означает соединение, которое может быть преобразовано в физиологических условиях или путем сольволиза в биологически активную соль, описанную в данном документе (например, тартрат структуры (I)). Таким образом, термин «пролекарство» относится к предшественнику биологически активного соединения, который является фармацевтически приемлемым. В некоторых аспектах пролекарство неактивно при введении субъекту, но превращается in vivo в активное соединение,

например, путем гидролиза. Соединение-пролекарство часто предлагает преимущества растворимости, тканевой совместимости или замедленного высвобождения в организме млекопитающих (см., например, Bundgard, H., Design of Prodrugs (1985), стр. 7 9, 21 24 (Elsevier, Amsterdam). Обсуждение пролекарств представлено в Higuchi, T., et al., «Pro medic as New Delivery Systems», A.C.S. Symposium Series, Vol. 14, и в Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, оба которых полностью включены в настоящий документ в качестве ссылки. Термин «пролекарство» также включает любые ковалентно связанные носители, которые высвобождают активное соединение in vivo при введении такого пролекарства млекопитающему. Пролекарства активного соединения, как описано в данном документе, обычно получают путем модификации функциональных групп, присутствующих в активном соединении, таким образом, чтобы модификации расщеплялись до исходного активного соединения либо при обычных манипуляциях, либо in vivo. Пролекарства включают соединения, в которых гидрокси, амино или меркаптогруппа связана с любой группой, которая, когда пролекарство активного соединения вводится млекопитающему, расщепляется с образованием свободной гидрокси, свободной амино или свободной меркаптогруппы соответственно. Примеры пролекарств включают, но не ограничиваются ими, ацетатные, формиатные и бензоатные производные гидроксильной функциональной группы или ацетамидные, формамидные и бензамидные производные аминогруппы в активном соединении и подобные.

Термин «in vivo» относится к событию, которое происходит в организме субъекта.

«Примерно» и «приблизительно», когда они используются в связи с числовым значением или диапазоном значений, который предоставляется для описания конкретной твердой формы, например, конкретной температуры или диапазона температур, например, описывающих плавление, дегидратацию, десольватацию или стеклование; изменение массы, такое как, например, изменение массы в зависимости от температуры или влажности; содержание растворителя или воды, например, по массе или процентному содержанию; или положение пика, такое как, например, при анализе с помощью ИК- или Рамановской спектроскопии или ПРД; указывают, что значение или диапазон значений могут отклоняться до степени, которая считается разумной для специалиста в данной области техники, при этом все еще описывая конкретную твердую форму. В частности, термины «примерно» и «приблизительно» при использовании в этом контексте указывают, что числовое значение или диапазон значений могут варьироваться на 20%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,9%, 0,8%, 0,7%, 0,6%, 0,5%, 0,4%, 0,3%, 0,2%, 0,1% или 0,01% от указанного значения или диапазона значений при этом все еще описывая конкретную композицию или твердую форму.

Используемый здесь термин «по существу идентичный» относится к измеренным физическим характеристикам, которые сопоставимы по значению, или к кривым данных, которые сопоставимы по положению пика, амплитуде или интенсивности в пределах диапазона вариаций, которые обычно связаны с расположением или обращением с

образцом или идентичностью прибора, используемого для получения следов или физических характеристик, или из-за других вариаций или флуктуаций, обычно встречающихся внутри или между лабораторных сред или аналитического инструментария.

«По существу чистый» в контексте настоящего описания относится к твердой форме соединения, описанного в данном документе, которое содержит менее примерно 3% или менее примерно 2% по массе общих примесей, или более предпочтительно менее примерно 1% по массе воды, и/или менее примерно 0,5% по массе примесей, таких как побочные продукты разложения или синтеза или остаточный органический растворитель.

«Практически чистый» в контексте настоящего описания относится к форме соединения, описанного в данном документе, в которой сумма примесей или родственного вещества в форме составляет менее 1%, предпочтительно, менее 0,75%, более предпочтительно, менее 0,5%, и что остаточные растворители и вода составляют менее 1%, предпочтительно менее 0,75%, более предпочтительно менее 0,5% и еще более предпочтительно менее 0,25% по массе.

Термин «кристаллические формы» и родственные термины в данном документе относятся к различным кристаллическим состояниям данного вещества, включая, но не ограничиваясь ими, полиморфы, сольваты, гидраты, смешанные сольваты, сокристаллы и другие молекулярные комплексы. Кристаллическая форма также может быть, но не обязательно, смесью различных кристаллических состояний данного вещества, такой как сочетание псевдополиморфных или полиморфных форм, сочетание одной или нескольких полиморфных форм с одним или несколькими псевдополиморфами, или сочетание таких формы с аморфными или не твердыми формами вещества. Типичные сочетания представляют собой две или более полиморфных или псевдополиморфных форм, таких смесь полиморфной формы с псевдополиморфной формой или смесь полиморфной или псевдополиморфной формы с аморфным материалом. Обычно кристаллические формы обычно отличаются друг от друга по диаграммам ПРД. Твердотельные формы, имеющие разную морфологию кристаллов, но по существу идентичные диаграммы ПРД, считаются разными кристаллическими формами, поскольку разные морфологии могут проявлять разные свойства, связанные с физической формой. Свойства, относящиеся к физической форме, включают скорость растворения, стабильность, гигроскопичность, механические свойства, такие как твердость, прочность на разрыв, совместимость (таблетирование), а также свойства, связанные с обработкой, например текучесть, фильтрование, смешивание и другие физические или фармацевтические свойства, как описано в данном документе для различных полиморфов.

Варианты осуществления изобретения, раскрытые в данном документе, также охватывают фармацевтически приемлемые соли соединения структуры (I), меченные изотопами посредством замены одного или нескольких атомов атомом, имеющим другую атомную массу или массовое число (т.е. «изотопную форму» фармацевтически приемлемых солей соединения структуры (I)). Примеры изотопов, которые могут быть

включены в описанные соединения, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, фтора, хлора и йода, такие как ^{2}H, ^{3}H, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{13}N, ^{15}N, ^{15}O, ^{17}O, ^{18}O, ^{31}P, ^{32}P, ^{35}S, ^{18}F, ^{36}Cl, ^{123}I и ^{125}I, соответственно. Эти радиоактивно меченые соединения могут применяться для помощи в определении или измерении эффективности соединений путем характеризации, например, места или способа действия или аффинности связывания с фармакологически важным местом действия. Некоторые меченные изотопами фармацевтически приемлемые соли соединений структуры (I), например соли, содержащие радиоактивный изотоп, полезны в исследованиях распределения лекарств и/или субстратов в тканях. Радиоактивные изотопы трития (т.е. ^{3}H) и углерода-14 (т.е. ^{14}C) особенно полезны для этой цели благодаря простоте их введения и готовым средствам обнаружения.

Замена более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий (т.е. ^{2}H), может дать определенные терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например, увеличенным периодом полувыведения in vivo или уменьшенными требованиями к дозировке, и, следовательно, в некоторых обстоятельствах предпочтительна.

Замещение изотопами, излучающими позитроны, такими как ^{11}C, ^{18}F, ^{15}O и ^{13}N, может быть полезно в исследованиях позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) для изучения степени занятости рецептора субстратом. Меченые изотопами соли соединений структуры (I), как правило, могут быть получены обычными способами, известными специалистам в данной области, или способами, аналогичными тем, которые описаны в примерах, как изложено ниже, с использованием соответствующего меченого изотопом реагента вместо ранее использованного не меченного реагента.

Понятно, что в настоящем описании сочетание заместителей и/или переменных представленных формул допустимы, только если такие вклады приводят к стабильным соединениям. «Стабильное соединение» и «стабильная структура» предназначены для обозначения соединения, которое достаточно устойчиво, чтобы выдержать выделение до полезной степени чистоты из реакционной смеси и составление в эффективный терапевтический агент.

«Необязательный» или «необязательно» означает, что описанное далее событие обстоятельств может произойти или не произойти, и что описание включает случаи, когда упомянутое событие или обстоятельство происходит, и случаи, в которых оно не происходит. Например, «необязательно замещенный арил» означает, что арильный радикал может быть или не быть замещен, и что описание включает как замещенные арильные радикалы, так и арильные радикалы, не имеющие замещения.

«Фармацевтическая композиция» относится к составу соединения по изобретению и среде, общепринятой в данной области техники для доставки биологически активного соединения млекопитающим, например людям. Такая среда включает все фармацевтически приемлемые носители, разбавители или эксципиенты.

«Фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент» включает

без ограничения любой адъювант, носитель, эксципиент, глидант, подсластитель, разбавитель, консервант, краситель/краситель, усилитель вкуса, поверхностно-активное вещество, смачивающий агент, диспергирующий агент, суспендирующий агент, стабилизатор, изотонический агент, растворитель или эмульгатор, одобренный Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США как приемлемый для использования у людей или домашних животных.

«Цвиттерионная форма» относится к форме соединения (например, структуре (II')), в которой, по меньшей мере, одна функциональная группа имеет положительный заряд, одна функциональная группа имеет отрицательный электрический заряд, и суммарный заряд всей молекулы равен нулю. Например, фосфатная группа ($-PO_3H_2$) может существовать в анионной форме (например, $-PO_3H-$), и атом азота в той же молекуле может существовать в протонированной (катионной форме).

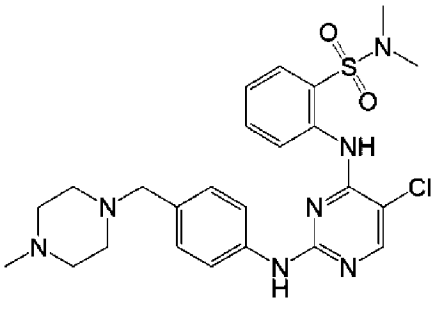
«Таутомер» относится к протонному сдвигу от одного атома молекулы к другому атому той же самой молекулы. Таким образом, варианты осуществления включают таутомеры раскрытых соединений.

«Стандартная доза» является дискретным количеством фармацевтической композиции, содержащим заранее определенное количество активного ингредиента. Количество активного ингредиента обычно равно дозировке активного ингредиента, которую следует вводить субъекту, и/или удобной части такой дозировки, такой как половина или треть такой дозировки.

Протокол химического наименования и структурные диаграммы, используемые здесь, представляют собой модифицированную форму системы номенклатуры I.U.P.A.C. с использованием программы ACD/Name Version 9.07 и/или программы присвоения имен ChemDraw Ultra Version 11.0.1 (CambridgeSoft). Для сложных химических названий, используемых в данном документе, группа заместителя обычно упоминается перед группой, к которой она присоединяется. Например, циклопропилэтил включает этильную основную цепь с циклопропильным заместителем. За исключением описанного ниже, все связи обозначены на диаграммах химической структуры в данном документе, за исключением всех связей на некоторых атомах углерода, которые, как предполагается, связаны с достаточным количеством атомов водорода для завершения валентности.

B. ТАРТРАТЫ СОЕДИНЕНИЯ СТРУКТУРЫ (I)

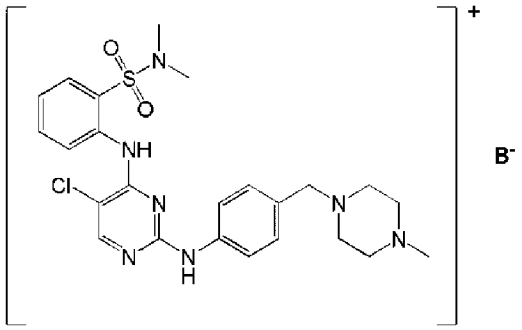
В одном аспекте настоящее описание относится к тартрату соединения структуры (I):



(I)

В некоторых вариантах осуществления тартратом является соль L-(+)-винной кислоты. В некоторых конкретных вариантах осуществления тартратом соединения структуры (I) является кристаллическое или частично кристаллическое твердое вещество.

Представлены другие соли соединения структуры (I). Солью может быть фармацевтически приемлемая соль. Фармацевтически приемлемая соль соединения структуры (I) может быть представлена следующей структурой:



(II)

где B- является основанием, сопряженным с кислотой, используемой для образования соли. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтически приемлемой солью является соль фосфорной кислоты. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтически приемлемой солью является малат. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтически приемлемой солью является сукцинат. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтически приемлемой солью является бензолсульфонат.

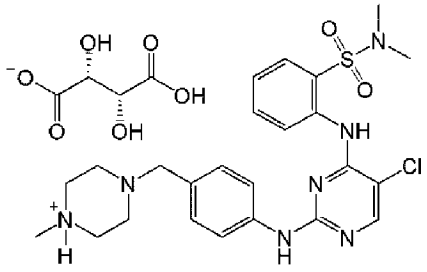
Несколько солей соединения структуры (I) подвергали скринингу, как описано в Примере 1. Тартраты проявляет благоприятные фармакокинетические свойства, такие как биодоступность, как описано в примерах 2 и 3.

1. Стехиометрические и кристаллические формы

В некоторых вариантах осуществления молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) составляет от примерно 4:1 до примерно 1:4, от примерно 3,5:1 до примерно 1:3,5, от примерно 3,2:1 до примерно 1:3,2, от примерно 3:1 до примерно 1:3, от примерно 2,7:1 до примерно 1:2,7, от примерно 2,5:1 до примерно 1:2,5, от примерно 2,2:1 до примерно 1:2,2, от примерно 2:1 до примерно 1:2,2, от примерно 1,8:1 до примерно 1:2,2, от примерно 1,5:1 до примерно 1:2,2, от примерно 1,2:1 до примерно 1:2,2, от примерно 1,1:1 до примерно 1:2,2, от примерно 0,8:1 до примерно 1:2,2, от примерно 0,5:1 до примерно 1:2,2, от примерно 0,2:1 до примерно 1:2,2, от примерно 0,1:1 до примерно 1:2,2 или от примерно 2:1 до примерно 1:2,5.

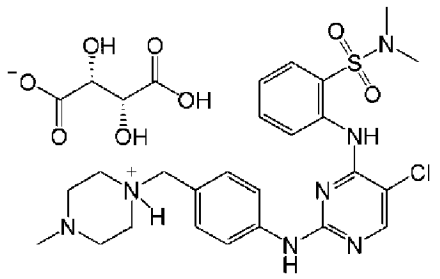
В некоторых вариантах осуществления молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) составляет примерно 1:1; например, от примерно 0,8:1 до примерно 1,2:1. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение составляет 0,8:1, 0,9:1, 1:1:, 1,1:1 или 1,2:1. В конкретном варианте молярное соотношение составляет 1:1. В другом конкретном варианте молярное соотношение составляет 1,2:1. В конкретном

варианте осуществления предлагается тартрат, имеющий следующую структуру (IIa):



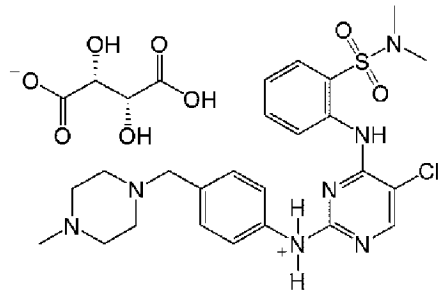
.

В некоторых вариантах осуществления тартрат соединения структуры (I) имеет одну из следующих структур (IIb), (IIc), (IId), (IIe), (IIf) или (IIg):



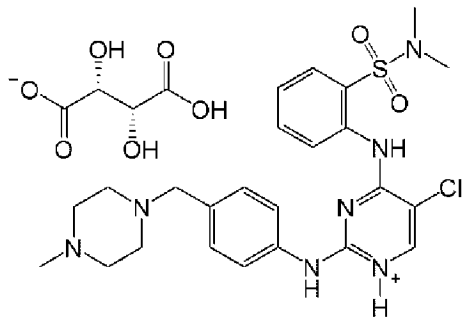
;

(IIb)



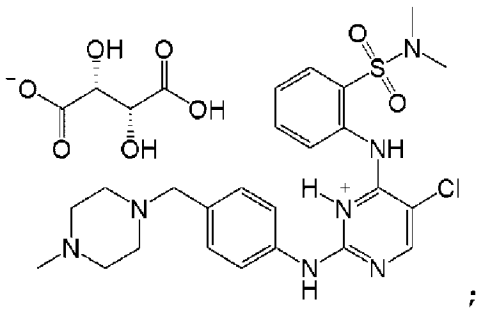
;

(IIc)



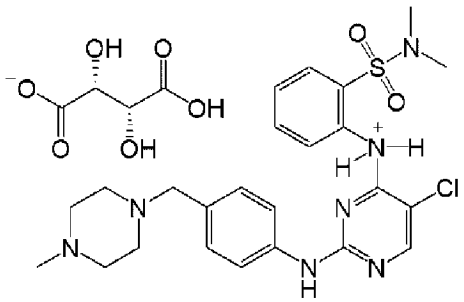
;

(IId)



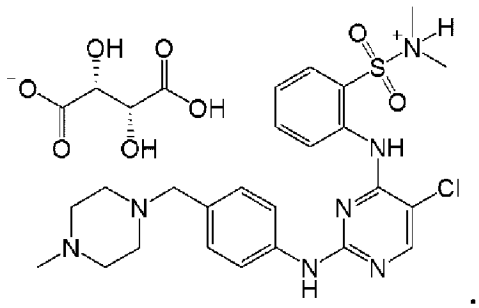
;

(IIe)



или

(IIf)



.

(IIg)

а. Форма В

В некоторых вариантах осуществления тартрат, имеющий стехиометрию примерно 1:1, является кристаллической формой В и характеризуется одной или несколькими из следующих: порошковая рентгеновской дифракция (ПРД), дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) и термогравиметрический анализ (ТГА). В конкретном варианте осуществления форма В имеет молярное отношение винной кислоты к

соединению структуры (I) 1:1. В другом конкретном варианте осуществления форма B имеет молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) 1,2:1.

В некоторых вариантах осуществления форма B характеризуется дифрактограммой ПРД, содержащей два или более пика в единицах 2-тета, выбранных из 7,5±0,2, 10,3±0,2, 18,9±0,2 и 19,0±0,2 при температуре около 22°C. В некоторых вариантах осуществления дифрактограмма ПРД формы B включает 2, 3 или 4 пика, выбранных из 7,5±0,2, 10,3±0,2, 18,9±0,2 и 19,0±0,2. В некоторых вариантах осуществления дифрактограмма ПРД по существу идентична Фиг. 62. В некоторых вариантах осуществления дифрактограмма ПРД содержит один или несколько (например, 1, 2, 3, 4 или 5) дополнительных пиков, выбранных из пиков, перечисленных на фиг. 94.

В некоторых вариантах осуществления форма B характеризуется термограммой ДСК, содержащей пик эндотерма в единицах°C при примерно 101,9. В некоторых вариантах осуществления термограмма ДСК содержит пик эндотерма в единицах°C при примерно 140,1. В некоторых вариантах осуществления термограмма ДСК содержит пики эндотерма в единицах°C примерно при 101,9 и 140,1. В конкретном варианте осуществления термограмма ДСК по существу идентична термограмме на фиг. 95.

В некоторых вариантах осуществления форма B характеризуется термограммой ТГА, показывающей потерю веса около 2,3% при 160°C. В конкретном варианте осуществления термограмма ТГА по существу идентична термограмме, показанной на фиг. 95.

Физические и химические свойства формы B описаны в примере 26, таблице 17. Токсикокинетический и токсикологический профили формы B описаны в примере 27.

b. *Форма D*

В некоторых вариантах осуществления тартрат, имеющий стехиометрию примерно 1:1, является кристаллической формой D и характеризуется одним или несколькими из ПРД, ДСК и ТГА. В конкретном варианте осуществления форма D имеет молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) 1:1.

В некоторых вариантах осуществления форма D характеризуется дифрактограммой ПРД, содержащей пики в единицах 2-тета при 12,8±0,2 и 18,9±0,2 при температуре примерно 22°C. В некоторых вариантах осуществления дифрактограмма ПРД по существу идентична дифрактограмме на Фигуре 63. В некоторых вариантах осуществления дифрактограмма ПРД содержит один или несколько (например, 1, 2, 3, 4 или 5) дополнительных пиков, выбранных из пиков, перечисленных на фиг. 96.

В некоторых вариантах осуществления форма D характеризуется пиком эндотерма в единицах°C примерно при 79,4. В некоторых вариантах осуществления термограмма ДСК содержит пик эндотерма в единицах°C при примерно 140,7. В некоторых вариантах осуществления термограмма ДСК содержит пики эндотерма в единицах°C примерно при 79,4 и 140,7. Термограмма ДСК по существу идентична термограмме на фиг.97.

В некоторых вариантах осуществления форма D характеризуется термограммой ТГА, показывающей потерю веса примерно 2,0% при 160°C. В конкретном варианте

осуществления термограмма ТГА по существу идентична термограмме на фиг.97.

В некоторых вариантах осуществления тартрат, имеющий стехиометрию примерно 1:1, включает форму D. В некоторых вариантах осуществления тартрат, имеющий стехиометрию примерно 1:1, состоит в основном из формы D. В некоторых вариантах осуществления форма D является по существу чистой.

Физические и химические свойства формы B описаны в примере 26, таблице 17. Токсикокинетический и токсикологический профили формы B описаны в примере 27.

c. Форма A'

В некоторых вариантах осуществления тартрат, имеющий стехиометрию примерно 1,5:1, является кристаллической формой A' и характеризуется одним или несколькими из ПРД, ДСК и ТГА. В некоторых вариантах осуществления молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) составляет примерно 1,5:1; например, от примерно 1,4:1 до примерно 1,6:1. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение составляет 1,4:1, 1,5:1 или 1,6:1. В конкретном варианте молярное соотношение составляет 1,5:1. В некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма A' характеризуется термограммой ДСК, содержащей пик эндотерма примерно при 182,3°C. В некоторых вариантах осуществления пик эндотерма имеет начальную температуру около 170,5°C.

В некоторых вариантах осуществления тартрат, имеющий стехиометрию примерно 1,5:1, включает форму A'. В некоторых вариантах осуществления тартрат, имеющий стехиометрию около 1,5:1, по существу состоит из формы A'. В некоторых вариантах осуществления форма A' является по существу чистой.

d. Форма A

В некоторых вариантах осуществления тартрат, имеющий стехиометрию примерно 2:1, является кристаллической формой A и характеризуется одним или несколькими из ПРД, ДСК и ТГА. В некоторых вариантах осуществления молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) находится в диапазоне от примерно 2,2:1 до примерно 1,9:1. В конкретном варианте молярное соотношение составляет 2:1.

В некоторых вариантах осуществления форма A характеризуется дифрактограммой ПРД, содержащей три или более пиков в единицах 2-тета, выбранных из 7,0±0,2, 11,2±0,2, 15,4±0,2, 16,3±0,2, 17,1±0,2, 19,9±0,2. , 21,6±0,2 и 25,5±0,2 при температуре около 22°C. В некоторых вариантах осуществления дифрактограмма ПРД формы A включает 3, 4, 5, 6, 7 или 8 пиков, выбранных из 7,0±0,2, 11,2±0,2, 15,4±0,2, 16,3±0,2, 17,1±0,2, 19,9±0,2, 21,6±0,2 и 25,5±0,2. В некоторых вариантах осуществления дифрактограмма ПРД по существу идентична дифрактограмме на Фигуре 61. В некоторых вариантах осуществления дифрактограмма ПРД содержит один или несколько (например, 1, 2, 3, 4 или 5) дополнительных пиков, выбранных из пиков, перечисленных в таблице 1.

Таблица 1. *Табличные данные порошковой рентгеновской дифрактограммы из формы A*

Угол	D значение	Чистая интенсивность	Общая интенсивность	Относительная интенсивность
7,016	12,58927	872	1003	39,7%
7,137	12,37531	283	413	12,9%
7,671	11,51594	89,1	210	4,1%
8,655	10,20899	379	489	17,3%
9,869	8,95559	442	542	20,1%
10,751	8,22221	215	312	9,8%
11,241	7,86498	2195	2290	100,0%
13,701	6,45790	223	312	10,2%
14,070	6,28943	34,2	128	1,6%
14,457	6,12183	595	692	27,1%
14,914	5,93526	129	229	5,9%
15,402	5,74823	990	1093	45,1%
15,921	5,56201	114	222	5,2%
16,286	5,43814	666	776	30,4%
17,046	5,19745	1012	1124	46,1%
17,392	5,09476	473	585	21,5%
17,562	5,04590	505	616	23,0%
18,035	4,91450	65,4	173	3,0%
18,371	4,82545	226	330	10,3%
19,280	4,60009	427	532	19,5%
19,910	4,45589	1229	1339	56,0%
20,445	4,34050	406	517	18,5%
20,752	4,27683	172	282	7,8%
20,915	4,24395	130	239	5,9%
21,235	4,18071	279	387	12,7%
21,579	4,11474	799	904	36,4%
21,909	4,05363	38,7	139	1,8%
22,383	3,96882	110	208	5,0%
22,665	3,91998	512	609	23,3%
23,147	3,83948	78,3	174	3,6%
23,538	3,77658	417	509	19,0%
24,111	3,68807	64,8	149	3,0%

Угол	D значение	Чистая интенсивность	Общая интенсивность	Относительная интенсивность
24,670	3,60583	95,8	180	4,4%
25,533	3,48590	789	880	36,0%
26,170	3,40239	44,5	137	2,0%
26,904	3,31131	518	614	23,6%
27,366	3,25638	114	213	5,2%
27,575	3,23223	78,8	180	3,6%
28,167	3,16561	163	266	7,4%
28,282	3,15301	146	250	6,7%
28,542	3,12484	146	250	6,7%
28,960	3,08070	32,3	137	1,5%
29,228	3,05304	33,5	138	1,5%
29,485	3,02701	28,9	135	1,3%
30,066	2,96986	155	265	7,0%
30,461	2,93226	104	215	4,8%
31,002	2,88223	189	299	8,6%
31,440	2,84310	62,4	169	2,8%
32,056	2,78984	34,6	139	1,6%
32,362	2,76416	90,1	195	4,1%
33,279	2,69008	99,6	202	4,5%
34,511	2,59683	59,1	157	2,7%
36,261	2,47542	46,4	136	2,1%
37,084	2,42233	45,3	136	2,1%
37,386	2,40348	33,8	123	1,5%
38,983	2,30860	46,3	126	2,1%

В некоторых вариантах осуществления форма А характеризуется термограммой ДСК, содержащей значение пика эндотерма примерно при 185,0°С - 194,0°С. В некоторых вариантах осуществления значение пика эндотерма находится в диапазоне температур от около 186,0°С - 193,0°С, от около 187,0°С - 192,0°С или от около 188,0°С - 191,0°С. В некоторых более конкретных вариантах осуществления значение пика эндотерма составляет примерно 189,1°С.

В некоторых вариантах осуществления форма А характеризуется термограммой ДСК, содержащей значение пика эндотерма при примерно 148,0°С - 155,0°С. В некоторых вариантах осуществления значение пика эндотерма находится в диапазоне температур от

около 150,0°C - 154,0°C, от около 151,0°C - 153,0°C или от около 151,5°C - 152,5°C, по данным дифференциальной сканирующей калориметрии. В некоторых более конкретных вариантах осуществления значение пика эндотерма составляет примерно 152,1°C.

В некоторых вариантах осуществления форма A характеризуется термограммой ДСК, содержащей значения пиков эндотерма при примерно 185,0°C - 194,0°C и примерно при 148,0°C - 155,0°C. В некоторых вариантах осуществления значение пиков эндотерма находятся в диапазоне температур от около 186,0°C - 193,0°C, от около 187,0°C - 192,0°C или от около 188,0°C - 191,0°C и от около 150,0°C - 154,0°C, примерно от 151,0°C - 153,0°C или примерно от 151,5°C - 152,5°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления значение пиков эндотерма составляют примерно 189,1°C и примерно 152,1°C.

В некоторых вариантах осуществления форма A характеризуется термограммой ДСК, содержащей пик эндотерма в единицах°C при примерно 107,8. В некоторых вариантах осуществления термограмма ДСК содержит пик эндотерма в единицах°C при примерно 152,1. В некоторых вариантах осуществления термограмма ДСК содержит пик эндотерма в единицах°C примерно при 189,1. В некоторых вариантах осуществления термограмма ДСК содержит пики эндотерма в единицах°C при примерно 107,8, примерно 152,1 и примерно 189,1. В некоторых вариантах осуществления термограмма ДСК по существу идентична термограмме на Фигуре 64.

В некоторых вариантах осуществления форма A характеризуется термограммой ТГА, показывающей потерю веса около 1,8% при 160°C. В некоторых вариантах осуществления термограмма ТГА по существу идентична термограмме на Фигуре 64.

В некоторых вариантах осуществления тартрат, имеющий стехиометрию примерно 2:1, включает форму A. В некоторых вариантах осуществления тартрат, имеющий стехиометрию примерно 2:1, состоит по существу из формы A. В некоторых вариантах осуществления форма A является по существу чистой. Физические и химические свойства формы A описаны в примере 26, таблице 17. Токсикокинетический и токсикологический профили формы A описаны в примере 27.

e. Формы C, E, F, G, H и I

Тартрат соединения структуры (I) существует в других кристаллических формах, как показано в таблице 2.

Таблица 2. Кристаллические формы тартратов структуры (I)

Кристаллическая форма	Скрининг растворителя формы A	Скрининг суспензии формы A	Скрининг суспензии формы D	Стехиометрия	Стабильность по ВЭЖХ	ДСК Начало (°C)	Изотерм сорбции влаги
A	+++	+++	Не образует	1:1,5	Стабильна	170,52	гигроскопичная

			ся	1:2	Стабильна	187,06	гигроскопичная
B	+	+		1:1,2		131,62	гигроскопичная
C	+	Не образуется				165,76	гигроскопичная
D	Не образуется		++	1:1	Стабильна	127,43	гигроскопичная
E			+			102,33	гигроскопичная
F			++			61,06	
G			+			128,61	
H			+			139,36	
I			+			118,60	

+++ Получена в трех системах растворителей или более

++ Образована в нескольких системах растворителей

+ Образована в одной системе растворителей или только при более высокой температуре

Из исследований скрининга полиморфов десять кристаллических форм, форма A (1:2), A' (1:1,5), B, C, D, E, F, G, H и I, были отнесены к диаграммам ПРД, как показано на фиг. 98. Термическое поведение (диаграммы ДСК/ТГА) этих кристаллических форм показано на фиг. 99A-99I.

Скриннинги суспензии и скриннинги растворителя, описанные ниже, были проведены в соответствии со способами примера 51.

Таблица 3. Скриннинг суспензии формы A

Комнатная температура			50°C		
Прогон	Растворитель	Кристаллическая форма	Прогон	Растворитель	Кристаллическая форма
1-1	Метанол	A	2-1	Метанол	A
1-2	Этанол	A	2-2	Этанол	A
1-3	2-пропанол	A	2-3	2-пропанол	A
1-4	2-пропанол-H_2O(5:1)	A	2-4	2-пропанол-H_2O(5:1)	A
1-5	H_2O	B	2-5	H_2O	-
1-6	Метанол-H_2O(5:1)	A	2-6	Метанол-H_2O(5:1)	-
1-7	Этанол-H_2O(5:1)	A	2-7	Этанол-H_2O(5:1)	A

1-8	Метанол-H_2O(10:1)	A	2-8	Метанол-H_2O(10:1)	A
1-9	Ацетонитрил-H_2O(1:1)	-	2-9	Ацетонитрил-H_2O(1:1)	-
1-10	Ацетонитрил-H_2O(10:1)	A	2-10	Ацетонитрил-H_2O(10:1)	A

Таблица 4. Скриннинг растворителей формы A'

Прогон	Кристаллическая форма	Растворитель	Прогон	Кристаллическая форма	Растворитель
001	B	H_2O	016	A	Хлорбензол
002	-	Метанол	017	A	Толуол
003	A	Этанол	018	A+C	H_2O-метанол (1:1)
004	A	2-пропанол	019	-	H_2O-этанол (1:1)
005	A	2-бутанол	020	C	H_2O-2-пропанол (1:1)
006	A	Хлороформ	021	-	H_2O-ацетонитрил (1:1)
007	A	Ацетонитрил	022	-	H_2O-ацетон (1:1)
008	A	1,2-диметоксиэтан	023	Аморфная	H_2O-метанол (1:10)
009	A	Тетрагидрофуран	024	Аморфная	H_2O-этанол (1:10)
010	A	Бутилметиловый эфир	025	Аморфная+A	H_2O-2-пропанол (1:10)
011	A	Циклопентилметиловый эфир	026	Аморфная+A	H_2O-ацетонитрил (1:10)
012	A	Этилацетат	027	Аморфная+A	H_2O-ацетон (1:10)
013	A	Пропилацетат	028	C	H_2O-2-пропанол (1:5)
014	A	Ацетон	029	-	H_2O-ацетонитрил (1:5)
015	A	Гептан	030	-	H_2O-ацетон (1:5)

Таблица 5. Скриннинг суспензии формы A'

Комнатная температура			50°C		
Прогон	Растворитель	Кристаллическая форма	Прогон	Растворитель	Кристаллическая форма
1-1	Метанол	A	2-1	Метанол	A
1-2	Этанол	A	2-2	Этанол	A
1-3	2-пропанол	A	2-3	2-пропанол	A
1-4	Ацетон	A	2-4	Ацетон	A

1-5	Ацетонитрил	A	2-5	Ацетонитрил	A
1-6	2-пропанол-H_2O(10:1)	A	2-6	2-пропанол-H_2O(10:1)	A
1-7	2-пропанол-H_2O(5:1)	A	2-7	2-пропанол-H_2O(5:1)	A
1-8	Метил трет-бутиловый эфир	A	2-8	Метил трет-бутиловый эфир	A
1-9	2-пропанол-H_2O(1:1)	A	2-9	2-пропанол-H_2O(1:1)	-

Таблица 6. Скриннинг суспензии формы D

Комнатная температура			50°C		
Прогон	Растворитель	Кристаллическая форма	Прогон	Растворитель	Кристаллическая форма
1-1	Метанол	E	2-1	Метанол	F
1-2	Этанол	D	2-2	Этанол	D
1-3	2-пропанол	D	2-3	2-пропанол	D
1-4	2-пропанол-H_2O(5:1)	F	2-4	2-пропанол-H_2O(5:1)	F
1-5	H_2O	G	2-5	H_2O	G
1-6	Метанол-H_2O (5:1)	H	2-6	Метанол-H_2O (5:1)	-
1-7	Этанол-H_2O (5:1)	F	2-7	Этанол-H_2O (5:1)	F
1-8	Этанол-H_2O (10:1)	D+F	2-8	Этанол-H_2O (10:1)	F
1-9	Ацетонитрил-H_2O (1:1)	-	2-9	Ацетонитрил-H_2O (1:1)	-
1-10	Ацетонитрил-H_2O (10:1)	F	2-10	Ацетонитрил-H_2O (10:1)	I

При скриннинге растворителя, показанном в таблице 4 (выше), форма C была образована перекристаллизацией формы A’ из смеси H_2O и спирта, такого как метанол и 2-пропанол. На графике термического разложения наблюдали потерю веса около 10% и широкий пик эндотерма, как показано на фиг. 99C. Это позволяет предположить, что форма C может быть сольватом со спиртом, и спирт удаляется в зависимости от повышения температуры.

Форма E была образована при скрининге суспензии из формы D только в метаноле при комнатной температуре, как показано в таблице 6. На графике термического разложения наблюдали потерю веса около 4%, как показано на фиг. 99E.

Форма F была образована при скрининге суспензии из формы D в смеси спирта и H_2O при комнатной температуре и 50°C, как показано в таблице 6. На графике термического разложения наблюдали потерю веса около 6%, как показано на фиг. 99F.

Форма G была образована при скрининге суспензии из формы D в H_2O при комнатной температуре и 50°C, как показано в таблице 6. График термического

разложения представлен на фиг. 99G.

Форма H была образована при скрининге суспензии только из формы D в смеси метанол-H_2O (5:1) при комнатной температуре, как показано на 6. График термического разложения представлен на фиг. 99H.

Форма I была образована при скрининге суспензии из Формы D только в смеси ацетонитрил-H_2O (10:1) при 50°C, как показано в Таблице 6. Данные термического разложения представлены на фиг. 99I.

C. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ

В другом аспекте настоящее раскрытие представляет фармацевтические композиции, содержащие одно или несколько соединений, описанных в данном документе, таких как фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) соединения структуры (I) или его кристаллическая форма (например, форма A), или соединение структуры (IV), или его фармацевтически приемлемая соль, и фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент. Используемый здесь термин «соединение структуры (I)» предназначен для обозначения либо соединения как такового (т.е. свободного основания), либо фармацевтически приемлемой соли, такой как тартрат соединения структуры (I), либо его кристаллической формы (например, формы A), если не указано иное. Используемый здесь термин «соединение структуры (IV)» предназначен для обозначения соединения как такового или его варианта осуществления, как описано в данном документе, включая его фармацевтически приемлемые соли (например, тартрат).

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция составлена для перорального введения. Например, в некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает пероральную капсулу. В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция составлена для инъекции. В некоторых более конкретных вариантах осуществления носитель или эксципиент выбирают из группы, состоящей из целлюлозы, лактозы, карбоксиметилцеллюлозы и стеарата магния.

В еще большем количестве вариантов осуществления фармацевтические композиции содержат соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV) и дополнительный терапевтический агент (например, противораковый агент). Не ограничивающие примеры таких терапевтических агентов описаны ниже *(например,* ибрутиниб или альвоцидиб).

Подходящие пути введения включают, но не ограничиваются ими, пероральное, внутривенное, ректальное, аэрозольное, парентеральное, офтальмологическое, легочное, чрезслизистое, трансдермальное, вагинальное, ушное, назальное и местное введение. Кроме того, только в качестве примера, парентеральная доставка включает внутримышечные, подкожные, внутривенные, интрамедуллярные инъекции, а также интратекальные, прямые внутрижелудочковые, внутрибрюшинные, интралимфатические и интраназальные инъекции.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) соединения структуры (I) или соединения структуры (IV), как

описано в настоящем документе, вводится местным, а не системным образом, например, посредством инъекции непосредственно в орган, часто в препарате депо или препарате с замедленным высвобождением. В конкретных вариантах осуществления составы длительного действия вводятся путем имплантации (например, подкожно или внутримышечно) или внутримышечной инъекцией. Кроме того, в других вариантах осуществления лекарственное средство доставляется в системе направленной доставки лекарственного средства, например, в липосоме, покрытой орган-специфическим антителом. В таких вариантах осуществления липосомы нацелены на орган и селективно поглощаются им. В еще других вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV), как описано в данном документе, представлено в форме состава с быстрым высвобождением в форме препарата с пролонгированным высвобождением или в форме препарата с промежуточным высвобождением. В еще других вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV), как описано в настоящем документе, вводят местно.

Соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемая соль соединения структуры (I) (например, тартрат) или соединение структуры (IV) в соответствии с некоторыми вариантами осуществления эффективно в широком диапазоне доз. Например, при лечении взрослых людей дозировки от 0,01 до 1000 мг, от 0,5 до 100 мг, от 5 до 100 мг, от 20 до 100 мг, от 25 до 75 мг, от 1 до 50 мг в день и от 5 до 40 мг в день являются примерами дозировок, которые используются в некоторых вариантах осуществления. Примерная дозировка составляет от 10 до 30 мг в день. В различных вариантах осуществления дозировка составляет 3, 6, 9, 12, 16, 21, 28, 32, 42 или 50 мг в день. Точная дозировка будет зависеть от пути введения, формы, в которой вводится соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат), или соединение структуры (IV), лечимого субъекта, массы тела лечимого субъекта и предпочтений и опыта лечащего врача.

В некоторых вариантах осуществления дозировка соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (*например,* тартрата) составляет примерно 1-37 мг/м^2 (например, 1-25 мг/м^2) или примерно 1-75 мг (например, 1-50 мг) ежедневно.

В некоторых вариантах осуществления ежедневная дозировка соединения структуры (I) (например, свободного основания или его фармацевтически приемлемой соли, такой как тартрат) или соединения структуры (IV) может составлять примерно 20 мг, примерно 25 мг, примерно 30 мг, около 35 мг, около 40 мг, около 45 мг, около 50 мг, около 55 мг, около 60 мг, около 65 мг, около 70 мг, около 75 мг, около 80 мг, около 85 мг, около 90 мг, около 95 мг или около 100 мг.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV) вводят в виде разовой дозы. Обычно такое введение проводят инъекцией, например внутривенной инъекцией, для быстрого введения агента. Однако при необходимости

используются другие пути. Однократная доза соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли *(например,* тартрата) или соединения структуры (IV) также может быть использована для лечения острого состояния.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV) вводят несколькими дозами. В некоторых вариантах осуществления дозирование проводят примерно один, два, три, четыре, пять, шесть раз или более шести раз в день. В других вариантах осуществления дозирование проводят примерно один раз в месяц, один раз в две недели, один раз в неделю или через день. В другом варианте осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат), или соединение структуры (IV) и другой агент (например, ибрутиниб или альвоцидиб) вводят вместе от примерно одного раза в день до примерно 6 раз в день. В другом воплощении введение соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV) и агента продолжается менее примерно 7 дней. В еще одном варианте осуществления введение продолжается более примерно 6, 10, 14, 28 дней, двух месяцев, шести месяцев или одного года. В некоторых случаях проводится непрерывное дозирование и поддерживается столько, сколько необходимо.

Введение соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV) может продолжаться столько, сколько необходимо. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV) вводят более чем 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 или 28 дней. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV) вводят в течение менее 28, 14, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 дня. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV) вводят длительно на постоянной основе, например, для лечения хронических эффектов. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV) вводят один раз в день в течение первых 21 из 28-дневного курса.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль вводят в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более курсов. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль вводят в курсах лечения до тех пор, пока у субъекта не появится прогрессирующее заболевание или пока он не перестанет переносить лечение. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль вводят курсами лечения до тех пор, пока у субъекта не перестанет обнаруживаться заболевание. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль вводят длительно на

постоянной основе, например, для лечения хронических эффектов.

Количество дозирований и интервал можно регулировать индивидуально, чтобы обеспечить уровни активных веществ в плазме, достаточные для поддержания желаемых фармакологических эффектов. Эти уровни в плазме называются минимальными эффективными концентрациями (МЭК). Дозировки, необходимые для достижения МЭК, будут зависеть от индивидуальных характеристик и пути введения. Анализы ВЭЖХ или биоанализы могут использоваться для определения концентраций в плазме.

Интервалы дозирования также можно определить с помощью значения МЭК. В некоторых вариантах осуществления способы лечения включают поддержание уровней в плазме выше МЭК в течение 10-90% времени. В некоторых вариантах осуществления уровень в плазме поддерживается в пределах 30-90%. В некоторых вариантах осуществления уровень в плазме поддерживается в пределах 50-90%. Например, в некоторых вариантах осуществления эффективные количества терапевтического агента могут находиться в диапазоне от приблизительно 2,5 мг/м^2 до 1500 мг/м^2 в день. Дополнительные иллюстративные количества варьируются от 0,2 до 1000 мг/4 раза в день, 2-500 мг/4 раза в день и 20-250 мг/4 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV) вводят в дозах. В данной области известно, что из-за межиндивидуальной вариабельности фармакокинетики соединения индивидуализация режима дозирования необходима для оптимальной терапии. Дозирование соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV) может быть найдено обычным экспериментированием в свете настоящего описания.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV) входит в состав фармацевтических композиций. В конкретных вариантах осуществления фармацевтические композиции составляются обычным способом с использованием одного или нескольких физиологически приемлемых носителей, содержащих эксципиенты и вспомогательные вещества, которые облегчают обработку активных соединений в препараты, которые можно использовать фармацевтически. Правильный состав зависит от выбранного пути введения. Любые фармацевтически приемлемые методики, носители и эксципиенты используются как подходящие для составления фармацевтических композиций, описанных здесь: Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Nineteenth Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H.A. and Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980; and Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Seventh Ed. (Lippincott Williams & Wilkins1999).

В некоторых вариантах осуществления описанное соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат) или соединение структуры

(IV) вводят в виде фармацевтических композиций, в которых соединение структуры (I) или фармацевтически его приемлемая соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV) смешивают с другими активными ингредиентами, как при комбинированной терапии. Здесь охвачены все сочетания активных веществ, изложенные в разделе комбинированной терапии ниже и во всем этом раскрытии.

Фармацевтическая композиция в контексте настоящего описания относится к смеси соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли *(например,* тартрата) или соединения структуры (IV) с другими химическими компонентами, такими как носители, стабилизаторы, разбавители, диспергирующие агенты, суспендирующие агенты, загустители и/или эксципиенты. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция облегчает введение субъекту соединения структуры (I) или *его* фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV). В некоторых вариантах осуществления на практике способов лечения или применения, представленных в настоящем документе, терапевтически эффективные количества соединения структуры (I) или его *фармацевтически* приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV), представленных в настоящем документе, составляют, вводят в фармацевтической композиции млекопитающему, имеющему заболевание, расстройство или медицинское состояние, подлежащее лечению. В конкретных вариантах осуществления млекопитающим является человек. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективные количества варьируются в зависимости от тяжести заболевания, возраста и относительного состояния здоровья субъекта, эффективности применяемого соединения и других факторов. Соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль *(например,* тартрат) или соединение структуры (IV), описанные в данном документе, используются отдельно или в сочетании с одним или несколькими терапевтическими агентами в качестве компонентов смесей.

В некоторых вариантах осуществления млекопитающее (например, человек) старше 18 лет. В некоторых вариантах осуществления млекопитающее (например, человек) имеет ожидаемую продолжительность жизни ≥3 месяцев, не является беременным или не может забеременеть, имеет приемлемую функцию печени (например, билирубин ≤1,5× верхний предел нормы или <3,0× верхний предел нормы для пациентов, получающих иммунотерапию, аспартат аминотрансферазу, аланин аминотрансферазу и щелочную фосфатазу ≤2,5× верхний предел нормы), имеют приемлемую функцию почек (например, расчетный клиренс креатина ≥30 мл/мин), имеют приемлемый гематологический статус (например, гранулоциты ≥1500 клеток/мм^3, количество тромбоцитов ≥100000 тромбоцитов/мм^3 или гемоглобин ≥9 г/дл), не имеют клинически значимых отклонений в анализе мочи, имеют приемлемый статус коагуляции (например, протромбиновое время в пределах 1,5× от нормальных пределов или активированнон частичное тромбопластиновое время в пределах 1,5× от нормальных пределов) или любое их сочетание.

В одном варианте осуществления одно или несколько из соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV) составлены в водном растворе. В конкретных вариантах осуществления водный раствор выбран из, только в качестве примера, физиологически совместимого буфера, такого как раствор Хэнка, раствор Рингера или физиологический солевой буфер. В других вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV) составлены для введения через слизистые оболочки. В конкретных вариантах осуществления составы для трансмукозного введения включают смачивающие реагенты, которые подходят для барьера, через который необходимо проникнуть. В еще других вариантах осуществления, где описанные здесь соединения составлены для других парентеральных инъекций; подходящие составы включают водные или неводные растворы. В конкретных вариантах осуществления такие растворы включают физиологически совместимые буферы и/или эксципиенты.

В другом варианте осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая *соль* (например, тартрат) или соединение структуры (IV), описанное в данном документе, составлено для перорального введения. Описанные здесь соединения получают путем объединения активных соединений, например, *с* фармацевтически приемлемыми носителями или эксципиентами. В различных вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль *(например,* тартрат) или соединение структуры (IV), описанное в данном документе, составлено в виде пероральных дозированных форм, которые включают, только в качестве примера, таблетки, порошки, пилюли, драже, капсулы, жидкости, гели, сиропы, эликсиры, пасты, суспензии и подобные.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические препараты для перорального применения получают путем смешивания одного или нескольких твердых эксципиентов с соединением структуры (I) или его фармацевтически приемлемой солью (например, тартратом) или соединением структуры (IV), описанными в настоящем документе, необязательного измельчения полученной смеси и обработки смеси гранул после добавления подходящих вспомогательных веществ, если желательно, для получения таблеток или сердцевин драже. Подходящими эксципиентами являются, в частности, наполнители, такие как сахара, включая лактозу, сахарозу, маннит или сорбит; препараты целлюлозы, такие как, например, кукурузный крахмал, пшеничный крахмал, рисовый крахмал, картофельный крахмал, желатин, трагакантовая камедь, метилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза натрия; или другие, такие как поливинилпирролидон (ПВП или повидон) или фосфат кальция. В конкретных вариантах осуществления необязательно добавляются разрыхлители. Разрыхлители включают, только в качестве примера, поперечно-сшитую кроскармеллозу натрия, поливинилпирролидон, агар или альгиновую кислоту или ее соль, такую как альгинат натрия.

В одном варианте осуществления дозированные формы, такие как сердцевины драже и таблетки, имеют одно или несколько подходящих покрытий. В конкретных вариантах осуществления для покрытия лекарственной формы используют концентрированные растворы сахара. Растворы сахаров необязательно содержат дополнительные компоненты, такие как, только в качестве примера, аравийская камедь, тальк, поливинилпирролидон, гель карбопол, полиэтиленгликоль и/или диоксид титана, растворы лаков и подходящие органические растворители или смеси растворителей. Красители и/или пигменты также необязательно добавляются к покрытиям для целей идентификации. Дополнительно, красители и/или пигменты необязательно используются для характеризации различных сочетаний доз активного соединения.

В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективные количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV), описанных в настоящем документе, составляют другие пероральные дозированные формы. Пероральные дозированные формы включают твердые капсулы, изготовленные из желатина, а также мягкие герметичные капсулы из желатина и пластификатора, такого как глицерин или сорбит. В конкретных вариантах осуществления твердые капсулы содержат активные ингредиенты в смеси с одним или несколькими наполнителями. Наполнители включают, только в качестве примера, лактозу, связующие агенты, такие как крахмалы, и/или смазывающие агенты, такие как тальк или стеарат магния, и, необязательно, стабилизаторы. В других вариантах осуществления мягкие капсулы содержат соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV), которое растворено или суспендировано в подходящей жидкости. Подходящие жидкости включают, только в качестве примера, одно или несколько жирных масел, жидкий парафин или жидкий полиэтиленгликоль. Кроме того, необязательно добавляются стабилизаторы.

В других вариантах осуществления терапевтически эффективное количество соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV), описанных в настоящем документе, составлено для буккального или сублингвального введения. Составы, подходящие для трансбуккального или сублингвального введения, включают, только в качестве примера, таблетки, пастилки или гели. В других вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV), описанные в настоящем документе, составлены для парентеральной инъекции, включая составы, подходящие для болюсной инъекции или непрерывного вливания. В конкретных вариантах осуществления составы для инъекций представлены в стандартной дозированной форме (например, в ампулах) или в многодозовых контейнерах. В составы для инъекций необязательно добавляют консерванты. В других вариантах осуществления фармацевтические композиции составлены в форме, подходящей для парентерального введения, в виде стерильных суспензий, растворов или эмульсий в масляных или водных

носителях. Составы для парентеральных инъекций необязательно содержат вспомогательные вещества, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие агенты. В конкретных вариантах осуществления фармацевтические составы для парентерального введения включают водные растворы активных соединений в водорастворимой форме. В дополнительных вариантах осуществления суспензии соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV) готовят в виде подходящих масляных суспензий для инъекций. Подходящие липофильные растворители или носители для использования в фармацевтических композициях, описанных здесь, включают, только в качестве примера, жирные масла, такие как кунжутное масло, или синтетические сложные эфиры жирных кислот, такие как этилолеат или триглицериды, или липосомы. В определенных конкретных вариантах осуществления водные суспензии для инъекций содержат вещества, увеличивающие вязкость суспензии, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, сорбит или декстран. Необязательно, суспензия содержит подходящие стабилизаторы или агенты, которые увеличивают растворимость соединений, что позволяет приготовить высококонцентрированные растворы. Альтернативно, в других вариантах осуществления активный ингредиент находится в форме порошка для смешивания с подходящим носителем, например стерильной апирогенной водой, перед применением.

В других вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV) вводят местно. Описанные здесь соединения составляют в различные композиций для местного введения, такие как растворы, суспензии, лосьоны, гели, пасты, лечебные палочки, бальзамы, кремы или мази. Такие фармацевтические композиции необязательно содержат солюбилизаторы, стабилизаторы, вещества, повышающие тоничность, буферы и консерванты.

В еще других вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV) составлено для трансдермального введения. В конкретных вариантах осуществления в трансдермальных составах используются устройства для трансдермальной доставки и пластыри для трансдермальной доставки, и они могут представлять собой липофильные эмульсии или забуференные водные растворы, растворенные и/или диспергированные в полимере или адгезиве. В различных вариантах осуществления такие пластыри сконструированы для непрерывной, пульсирующей или по требованию доставки фармацевтических агентов. В дополнительных вариантах осуществления трансдермальная доставка соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV) осуществляется посредством ионтофоретических пластырей и подобных. В некоторых вариантах осуществления трансдермальные пластыри обеспечивают контролируемую доставку соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или

соединения структуры (IV). В конкретных вариантах осуществления скорость абсорбции снижается за счет использования мембран, регулирующих скорость, или улавливания соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV) внутри полимерной матрицы или геля. В альтернативных вариантах осуществления используются усилители абсорбции для увеличения абсорбции. Усилители абсорбции или носители включают абсорбируемые фармацевтически приемлемые растворители, которые способствуют прохождению через кожу. Например, в одном варианте осуществления трансдермальные устройства имеют форму повязки, содержащей покровный слой, резервуар, содержащий соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат), или соединение структуры (IV), необязательно с носителями, необязательно барьер, регулирующий скорость доставки соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV) к коже хозяина с контролируемой и заданной скоростью в течение длительного периода времени, а также средства для прикрепления устройства к коже.

В других вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV) составлено для введения путем ингаляции. Различные формы, подходящие для введения путем ингаляции, включают, но не ограничиваются ими, аэрозоли, впрыскивания или порошки. Фармацевтические композиции любого из соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV) удобно доставлять в форме аэрозольного спрея из упаковок под давлением или распылитель с использованием подходящего газа-вытеснителя (например, дихлордифторметана, трихлорфторметана, дихлортетрафторэтана, диоксида углерода или другого подходящего газа). В конкретных вариантах осуществления единицу дозирования аэрозоля под давлением определяют путем установки клапана для доставки отмеренного количества. В некоторых вариантах осуществления капсулы и картриджи из, только в качестве примера, желатина для использования в ингаляторе или инсуффляторе, составлены так, чтобы содержать порошковую смесь соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV) и подходящей порошковой основы, такой как лактоза или крахмал.

В других вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль *(например,* тартрат) или соединение структуры (IV) вводят в состав ректальных композиций, таких как клизмы, ректальные гели, ректальные пены, ректальные аэрозоли, суппозитории, гелевые суппозитории или удерживающие клизмы, содержащие обычные основы для суппозиториев, такие как масло какао или другие глицериды, а также синтетические полимеры, такие как поливинилпирролидон, ПЭГ и подобные. В суппозиториях композиций, легкоплавкий воск, такой как, но не ограничиваясь им, смесь глицеридов жирных кислот, необязательно в сочетание с маслом какао, сначала плавят.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции составляются любым обычным способом с использованием одного или нескольких физиологически приемлемых носителей, содержащих эксципиенты и вспомогательные вещества, которые облегчают переработку активных соединений в препараты, которые можно использовать фармацевтически. Правильный состав зависит от выбранного пути введения. При необходимости можно использовать любые фармацевтически приемлемые методики, носители и эксципиенты. Фармацевтические композиции, содержащие соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартратную соль), или соединение структуры (IV), производятся обычным способом, например, только в качестве примера, с помощью обычных процессов смешивания, растворения, гранулирования, изготовления драже, отмучивания, эмульгирования, инкапсулирования, улавливания или прессования.

Кроме того, соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV), описанные в настоящем документе, включают не сольватированные, а также сольватированные формы с фармацевтически приемлемыми растворителями, такими как вода, этанол и подобные. Сольватированные формы соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV), представленные в данном документе, также считаются раскрытыми здесь. Кроме того, фармацевтические композиции необязательно включают другие лекарственные или фармацевтические агенты, носители, адъюванты, такие как консервирующие, стабилизирующие, смачивающие или эмульгирующие агенты, промоторы раствора, соли для регулирования осмотического давления, буферы и/или другие терапевтически ценные вещества.

Способы получения композиций, содержащих соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат), или соединение структуры (IV), описанные в настоящем документе, включают получение соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV) с одним или несколькими инертными, фармацевтически приемлемыми эксципиентами или носителями с образованием твердого, полутвердого или жидкого вещества. Твердые композиции включают, но не ограничиваются ими, порошки, таблетки, диспергируемые гранулы, капсулы, облатки и суппозитории. Жидкие композиции включают растворы, в которых растворено соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV), эмульсии, содержащие соединение, или раствор, содержащий липосомы, мицеллы или наночастицы, содержащие соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV), как раскрыто в данном документе. Полутвердые композиции включают, но не ограничиваются ими, гели, суспензии и кремы. Формы фармацевтических композиций, описанные здесь, включают жидкие растворы или суспензии, твердые формы, подходящие для растворения или суспендирования в жидкости перед использованием, или эмульсии. Эти композиции

также необязательно содержат небольшие количества нетоксичных вспомогательных веществ, таких как смачивающие или эмульгирующие агенты, pH буферные агенты и так далее.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат) или соединение структуры (IV), иллюстративно принимает форму жидкости, в которой агенты присутствуют в растворе, в суспензии или в обоих. Обычно, когда композицию вводят в виде раствора или суспензии, первая часть агента присутствует в растворе, а вторая часть агента присутствует в форме частиц, в суспензии в жидкой матрице. В некоторых вариантах осуществления жидкая композиция включает гелевый состав. В других вариантах осуществления жидкая композиция является водной.

В определенных вариантах осуществления полезные водные суспензии содержат один или несколько полимеров в качестве суспендирующих агентов. Подходящие полимеры включают водорастворимые полимеры, такие как целлюлозные полимеры, например гидроксипропилметилцеллюлозу, и водонерастворимые полимеры, такие как поперечно-сшитые карбоксилсодержащие полимеры. Некоторые описанные здесь фармацевтические композиции содержат мукоадгезивный полимер, выбранный, например, из карбоксиметилцеллюлозы, карбомера (полимера акриловой кислоты), поли(метилметакрилата), полиакриламида, поликарбофила, сополимера акриловой кислоты/бутилакрилата, альгината натрия и декстрана.

Полезные фармацевтические композиции также необязательно включают солюбилизирующие агенты, способствующие растворимости соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV). Термин «солюбилизирующий агент» обычно включает агенты, которые приводят к образованию мицеллярного раствора или истинного раствора агента. Некоторые приемлемые неионные поверхностно-активные вещества, например полисорбат 80, полезны в качестве солюбилизирующих агентов, так же, как и офтальмологически приемлемые гликоли, полигликоли, например полиэтиленгликоль 400, и простые эфиры гликоля.

Кроме того, полезные фармацевтические композиции необязательно включают один или несколько агентов, регулирующих pH, или буферных агентов, включая кислоты, такие как уксусная, борная, лимонная, молочная, фосфорная и хлористоводородная кислоты; основания, такие как гидроксид натрия, фосфат натрия, борат натрия, цитрат натрия, ацетат натрия, лактат натрия и трис-гидроксиметиламинометан; и буферы, такие как цитрат/декстроза, бикарбонат натрия и хлорид аммония. Такие кислоты, основания и буферы включаются в количестве, необходимом для поддержания pH композиции в приемлемом интервале.

Кроме того, полезные композиции также необязательно включают одну или несколько солей в количестве, необходимом для доведения осмоляльности композиции до приемлемого интервала. Такие соли включают соли, содержащие катионы натрия, калия

или аммония и анионы хлорида, цитрата, аскорбата, бората, фосфата, бикарбоната, сульфата, тиосульфата или бисульфита; подходящие соли включают хлорид натрия, хлорид калия, тиосульфат натрия, бисульфит натрия и сульфат аммония.

Другие полезные фармацевтические композиции необязательно включают один или несколько консервантов для ингибирования микробной активности. Подходящие консерванты включают ртутьсодержащие вещества, такие как мерфен и тиомерсал; стабилизированный диоксид хлора; и соединения четвертичного аммония, такие как хлорид бензалкония, бромид цетилтриметиламмония и хлорид цетилпиридиния.

Еще другие полезные композиции включают одно или несколько поверхностно-активных веществ для повышения физической стабильности или для других целей. Подходящие неионные поверхностно-активные вещества включают глицериды жирных кислот полиоксиэтилена и растительные масла, например, гидрированное касторовое масло полиоксиэтилена (60); и полиоксиэтиленалкиловые эфиры и алкилфениловые эфиры, например октоксинол 10, октоксинол 40.

Еще другие полезные композиции включают один или несколько антиоксидантов для повышения химической стабильности, где это необходимо. Подходящие антиоксиданты включают, только в качестве примера, аскорбиновую кислоту и метабисульфит натрия.

В некоторых вариантах осуществления водные суспендированные композиции упакованы в однодозовые не подлежащие повторной герметизации контейнеры. Альтернативно используются мультидозовые подлежащие повторной герметизации контейнеры, и в этом случае обычно в композицию включают консервант.

В альтернативных вариантах осуществления используются другие системы доставки гидрофобных фармацевтических соединений. Липосомы и эмульсии являются примерами используемых здесь наполнителей или носителей для доставки. В некоторых вариантах осуществления также используются органические растворители, такие как N-метилпирролидон. В дополнительных вариантах осуществления, описанные здесь соединения доставляются с использованием системы замедленного высвобождения, такой как полупроницаемые матрицы твердых гидрофобных полимеров, содержащие терапевтический агент. Применяются различные материалы с замедленным высвобождением. В некоторых вариантах осуществления капсулы с замедленным высвобождением высвобождают соединения в течение от нескольких недель до более 100 дней. В зависимости от химической природы и биологической стабильности терапевтического реагента используются дополнительные стратегии стабилизации белка.

В некоторых вариантах осуществления описанные здесь составы содержат один или несколько антиоксидантов, металлических хелатирующих агентови, тиолсодержащих соединений и/или других обычных стабилизирующих агентов. Примеры таких стабилизирующих агентов включают, но не ограничиваются ими: (a) от около 0,5% до около 2% масс./об. глицерина, (b) от около 0,1% до около 1% масс./об. метионина, (c) от около 0,1% до около 2% масс./об. монотиоглицерина, (d) от около 1 от мМ до примерно 10

мМ ЭДТК, (e) от примерно 0,01% до примерно 2% масс./об. аскорбиновой кислоты, (f) от 0,003% до примерно 0,02%, масс./об. полисорбата 80, (g) от 0,001% до примерно 0,05% масс./об. полисорбата 20, (h) аргинин, (i) гепарин, (j) сульфат декстрана, (k) циклодекстрины, (l) полисульфат пентозана и другие гепариноиды, (m) двухвалентные катионы, такие как магний и цинк; или (n) их сочетания.

В некоторых вариантах осуществления концентрация соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV), представленных в фармацевтических композициях, составляет менее 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10% , 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,4%, 0,3%, 0,2%, 0,1%, 0,09%, 0,08%, 0,07%, 0,06%, 0,05%, 0,04%, 0,03%, 0,02%, 0,01%, 0,009%, 0,008%, 0,007%, 0,006%, 0,005%, 0,004%, 0,003%, 0,002%, 0,001%, 0,0009%, 0,0008%, 0,0007%, 0,0006%, 0,0005%, 0,0004%, 0,0003%, 0,0002% или 0,0001% масс./масс., масс./об. или об./об.

В некоторых вариантах осуществления концентрация соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV) находится в интервале от приблизительно 0,0001% до приблизительно 50%, от приблизительно 0,001% до приблизительно 40%, от приблизительно 0,01% до приблизительно 30%, от приблизительно 0,02% до приблизительно 29%, от приблизительно 0,03% до приблизительно 28%, от приблизительно 0,04% до приблизительно 27%, от приблизительно 0,05% до приблизительно 26%, приблизительно 0,06% до приблизительно 25%, от приблизительно 0,07% до приблизительно 24%, от приблизительно 0,08% до приблизительно 23%, от приблизительно 0,09% до приблизительно 22%, от приблизительно 0,1% до приблизительно 21%, от приблизительно 0,2% до приблизительно 20%, от приблизительно 0,3% до приблизительно 19%, от приблизительно 0,4% до приблизительно 18%, от приблизительно 0,5% до приблизительно 17%, от приблизительно 0,6% до приблизительно 16%, от приблизительно 0,7% до приблизительно 15%, от приблизительно 0,8% до приблизительно 14%, приблизительно от 0,9% до приблизительно 12%, от приблизительно 1% до приблизительно 10% масс./масс., масс./об. или об./об.

В некоторых вариантах осуществления концентрация соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV) находится в диапазоне от приблизительно 0,001% до приблизительно 10%, от приблизительно 0,01% до приблизительно 5%, от приблизительно 0,02% до приблизительно 4,5%, от приблизительно 0,03% до приблизительно 4%, от приблизительно 0,04% до приблизительно 3,5%, от приблизительно 0,05% до приблизительно 3%, от приблизительно 0,06% до приблизительно 2,5%, приблизительно 0,07% приблизительно до 2%, от приблизительно 0,08% до приблизительно 1,5%, от приблизительно 0,09% до приблизительно 1%, от приблизительно 0,1% до приблизительно 0,9% масс./масс., масс./об. или об./об.

В некоторых вариантах осуществления количество соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или соединения структуры (IV) равно или меньше 10 г, 9,5 г, 9,0 г. , 8,5 г, 8,0 г, 7,5 г, 7,0 г, 6,5 г, 6,0 г, 5,5 г, 5,0 г, 4,5 г, 4,0 г, 3,5 г, 3,0 г, 2,5 г, 2,0 г, 1,5 г, 1,0 г, 0,95 г, 0,9 г, 0,85 г, 0,8 г, 0,75 г, 0,7 г, 0,65 г, 0,6 г, 0,55 г, 0,5 г, 0,45 г, 0,4 г, 0,35 г, 0,3 г, 0,25 г, 0,2 г, 0,15 г, 0,1 г, 0,09 г, 0,08 г, 0,07 г, 0,06 г, 0,05 г, 0,04 г, 0,03 г, 0,02 г, 0,01 г, 0,009 г, 0,008 г, 0,007 г, 0,006 г, 0,005 г, 0,004 г, 0,003 г , 0,002 г, 0,001 г, 0,0009 г, 0,0008 г, 0,0007 г, 0,0006 г, 0,0005 г, 0,0004 г, 0,0003 г, 0,0002 г или 0,0001 г.

Фармацевтические композиции, содержащие фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат) соединения структуры (I), как описано выше, могут содержать кристаллическую форму, как описано здесь (например, форму A). Полиморф по настоящему раскрытию обычно составляют в фармацевтических лекарственных формах, чтобы обеспечить легко контролируемую дозировку лекарственного средства и чтобы дать субъекту отличный и эргономичный продукт. Режим дозирования для полиморфов по настоящему раскрытию, конечно, будет варьироваться в зависимости от известных факторов, таких как фармакодинамические характеристики конкретного агента и его схема и путь введения; вид, возраст, пол, состояние здоровья, медицинский анамнез и вес реципиента; характер и степень симптомов; вид сопутствующего лечения; частота лечения; путь введения, функция почек и печени субъекта и желаемый эффект. Полиморфы согласно настоящему раскрытию можно вводить в виде однократной суточной дозы или общую суточную дозу можно вводить в виде разделенных доз два, три или четыре раза в день.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит полиморф в концентрации от примерно 0,5% масс. До примерно 5,0% масс. В других конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит полиморф в концентрации от примерно 1,8% масс. до примерно 2,8% масс.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит полиморф в концентрации от примерно 10,0% масс. до примерно 20,0% масс. В других конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит полиморф в концентрации от примерно 13,7% масс. до примерно 15,7% масс.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит полиморф в концентрации от примерно 16,3% масс. до примерно 36,3% масс. В других конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит полиморф в концентрации от примерно 21,3% масс. до примерно 31,3% масс.

В более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит примерно 2,35% масс. полиморфа. В других конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит примерно 14,7% масс. полиморфа. В других конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит примерно 26,3% масс. полиморфа.

В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая

композиция содержит примерно 4 миллиграмма (мг) полиморфа. В других конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит примерно 25 мг полиморфа. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит примерно 100 мг полиморфа.

В некоторых вариантах осуществления эксципиентом является лактоза (например, моногидрат лактозы), микрокристаллическая целлюлоза, кроскармеллоза натрия, стеарат магния или их сочетание. В более конкретных вариантах осуществления эксципиент включает моногидрат лактозы. В некоторых вариантах осуществления эксципиент включает микрокристаллическую целлюлозу. В некоторых вариантах осуществления эксципиент включает кроскармеллозу натрия. В некоторых вариантах осуществления эксципиент содержит стеарат магния. В некоторых вариантах осуществления эксципиент включает микрокристаллическую целлюлозу, моногидрат лактозы, кроскармеллозу натрия и стеарат магния.

В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления фармацевтическая композиция содержит эксципиент в концентрации от примерно 95,0% масс. до примерно 99,5% масс. В более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит эксципиент в концентрации от примерно 97,2% масс. до примерно 98,2% масс. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит около 97,65% масс. эксципиента.

В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления фармацевтическая композиция содержит эксципиент в концентрации от примерно 80,0% масс. до примерно 90,0% масс. В более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит эксципиент в концентрации от примерно 84,3% масс. до примерно 86,4% масс. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит примерно 85,3% масс. эксципиента.

В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления фармацевтическая композиция содержит эксципиент в концентрации от примерно 63,7% масс. до примерно 88,7% масс. В более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит эксципиент в концентрации от примерно 68,7% масс. до примерно 83,7% масс. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит примерно 73,7% масс. эксципиента.

Полиморф тартрата соединения структуры (I), согласно некоторым вариантам осуществления, эффективен в широком диапазоне доз. Например, при лечении взрослых людей дозировки от 0,01 до 1000 мг, от 0,5 до 100 мг, от 1 до 50 мг в день и от 5 до 40 мг в день являются примерами дозировок, которые используются в некоторых вариантах осуществления. Примерная дозировка составляет от 10 до 30 мг в день. В различных вариантах осуществления дозировка составляет 3, 6, 9, 12, 16, 21, 28, 32, 42 или 50 мг в день. Точная дозировка будет зависеть от пути введения, формы, в которой вводят полиморф тартрата соединения структуры (I), субъекта, которого лечат, массы тела субъекта, которого лечат, и предпочтения и опыта лечащего врача.

В некоторых конкретных вариантах осуществления предложена стандартная дозированная форма, содержащая фармацевтическую композицию, описанную в данном документе. В различных вариантах осуществления стандартная дозированная форма составлена для перорального введения. В некоторых вариантах осуществления стандартная дозированная форма является капсулой. В некоторых вариантах осуществления стандартная дозированная форма является таблеткой.

В некоторых вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит полиморф в концентрации от примерно 0,5% масс. до примерно 5,0% масс. В других конкретных вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит полиморф в концентрации от примерно 1,8% масс. до примерно 2,8% масс.

В некоторых вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит полиморф в концентрации от примерно 10,0% масс. до примерно 20,0% масс. В других конкретных вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит полиморф в концентрации от примерно 13,7% масс. до примерно 15,7% масс.

В некоторых вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит полиморф в концентрации от примерно 16,3% масс. до примерно 36,3% масс. В других конкретных вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит полиморф в концентрации от примерно 21,3% масс. до примерно 31,3% масс.

В более конкретных вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит около 2,35% масс. полиморфа. В других конкретных вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит около 14,7% масс. полиморфа. В других конкретных вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит примерно 26,3% масс. полиморфа.

В некоторых более конкретных вариантах осуществления стандартная доза содержит около 4 миллиграммов (мг) полиморфа. В других конкретных вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит около 25 мг полиморфа. В некоторых вариантах осуществления стандартная доза содержит около 100 мг полиморфа.

В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления стандартная дозированная форма содержит эксципиент в концентрации от примерно 95,0% масс. до примерно 99,5% масс. В более конкретных вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит эксципиент в концентрации от примерно 97,2% масс. до примерно 98,2% масс. В других вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит около 97,65% масс. эксципиента.

В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления стандартная дозированная форма содержит эксципиент в концентрации от примерно 80,0% масс. до примерно 90,0% масс. В более конкретных вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит эксципиент в концентрации от примерно 84,3% масс. до примерно 86,4% масс. В других вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит примерно 85,3% масс. эксципиента.

В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления стандартная

дозированная форма содержит эксципиент в концентрации от примерно 63,7% масс. до примерно 88,7% масс. В более конкретных вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит эксципиент в концентрации от примерно 68,7% масс. до примерно 83,7% масс. В других вариантах осуществления стандартная дозированная форма содержит примерно 73,7% масс. эксципиента.

Фармацевтическая композиция или комбинация по настоящему раскрытию может быть в стандартной дозировке примерно 1-1000 мг активного ингредиента(ов) для субъекта примерно 50-70 кг, или примерно 1-500 мг, или примерно 1-250 мг, или примерно 1-150 мг или примерно 0,5-100 мг, или примерно 1-50 мг активных ингредиентов. Терапевтически эффективная дозировка соединения *(например,* полиморфа), фармацевтической композиции или их сочетаний зависит от вида субъекта, массы тела, возраста и индивидуального состояния, лечимого расстройства или заболевания или их тяжести. Врач, клиницист или ветеринар с обычной квалификацией может легко определить терапевтически эффективное количество каждого из активных ингредиентов, необходимых для профилактики, лечения или ингибирования развития расстройства или заболевания.

D. ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ

1. Способы лечения рака

В некоторых вариантах осуществления предложен способ лечения рака, включающий введение эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат), как описано здесь, субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей соединение структуры (I), субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых различных вариантах осуществления способы, описанные в настоящем документе, включают введение эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат), субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых более конкретных вариантах осуществления раком является гематологический рак. В некоторых вариантах осуществления раком является хронический лимфоцитарный лейкоз.

В некоторых конкретных вариантах осуществления представлен способ лечения рака, в котором способ включает введение соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата) или фармацевтической композиции, содержащий его, субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых более конкретных вариантах осуществления раком является гематологический рак, и способы включают введение субъекту фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата). В некоторых вариантах осуществления раком является хронический лимфоцитарный лейкоз.

В некоторых вариантах осуществления представлен способ лечения рака,

включающий введение эффективного количества любой из вышеуказанных фармацевтических композиций, содержащих соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I), например, тартрата соединения структуры (I), субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления рак медиируется киназой AXL. В некоторых вариантах осуществления раком является рак груди (например, трижды негативный рак молочной железы), рак поджелудочной железы, рак почек, рак толстой кишки, карцинома щитовидной железы, колоректальный рак (например, колоректальная карцинома с мутацией BRAF, KRAS или NRAS), рак яичников, меланома (например, меланома с мутацией BRAF) или рак легкого (например, EGFR+ немелкоклеточный рак легкого). В некоторых вариантах осуществления рак выбран из группы, состоящей из хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), рака груди и рака толстой кишки. В конкретных вариантах осуществления раком является распространенная солидная опухоль, трижды негативный рак молочной железы, EGFR+ немелкоклеточный рак легкого, колоректальная карцинома, рецидивирующая карцинома яичников или меланома с мутацией BRAF.

В некоторых вариантах осуществления раком является распространенная солидная опухоль (например, распространенная солидная опухоль, которая прогрессировала, несмотря на иммунотерапию). В некоторых вариантах осуществления предлагается способ лечения распространенной солидной опухоли, включающий введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата). В некоторых вариантах осуществления изобретения распространенная солидная опухоль является распространенной метастатической или прогрессирующей солидной опухолью. В некоторых вариантах осуществления рак (например, опухоль) прогрессировал, несмотря на иммунотерапию.

В одном варианте осуществления представлен способ модулирования иммунного ответа опухоли у субъекта, который в этом нуждается, где способ включает введение соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата) или фармацевтической композиции, содержащей их, субъекту, нуждающемуся в этом, тем самым модулируя иммунный ответ опухоли. В некоторых вариантах осуществления иммунный ответ усиливается. В некоторых вариантах осуществления опухолью является солидная опухоль. В некоторых вариантах осуществления модулирование включает ингибирование активности TAM киназы. В некоторых вариантах осуществления модулирование включает увеличение количества активированных дендритных клеток и/или увеличение инфильтрации опухоли дендритными клетками. В некоторых вариантах осуществления модулирование включает уменьшение нейтрофилов, регуляторных Т-клеток или их сочетания. В некоторых вариантах осуществления модулирование включает снижение иммуносупрессивных цитокинов (например, IL-6, G-CSF) в микросреде опухоли. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение терапевтически эффективного количества дополнительного агента, например, ингибитора иммунных контрольных точек,

описанного здесь или известного в данной области.

В одном варианте осуществления представлен способ модулирования иммунного ответа у субъекта, нуждающегося в этом, при этом способ включает введение соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата), или фармацевтической композиции, содержащей их, субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления модулирование иммунного ответа включает модулирование популяций иммунных клеток (например, нейтрофилов, регуляторных Т-клеток и дендритных клеток в опухоли).

В одном варианте осуществления предлагается способ усиления иммунитета хозяина у субъекта, нуждающегося в этом, где способ включает введение соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) *(например,* тартрата), или фармацевтической композиции, содержащей их, субъекту, нуждающемуся в этом.

В одном варианте осуществления предлагается способ подавления мезенхимального фенотипа у субъекта, который в этом нуждается, где способ включает введение соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата), фармацевтической композиции, содержащей их, субъекту, нуждающемуся в этом. Подавление мезенхимального фенотипа может включать изменение мезенхимального фенотипа. Подавление (например, изменение мезенхимального фенотипа) может быть полезным, например, для лечения широкого спектра видов рака, связанных с мезенхимальным фенотипом, таких как метастатический колоректальный рак. О мезенхимальном фенотипе может свидетельствовать экспрессия мезенхимальных маркеров, таких как Snail и Slug. В конкретных вариантах осуществления способа подавления мезенхимального фенотипа соединение структуры (I) вводят субъекту с метастатическим колоректальным раком. В конкретных вариантах осуществления способа подавления мезенхимального фенотипа соединение структуры (I) вводят субъекту с не метастатическим колоректальным раком, тем самым предотвращая или снижая вероятность метастазирования колоректального рака.

В одном варианте осуществления предлагается способ создания микросреды опухоли, приспособляемой к иммунному ответу у субъекта, нуждающегося в этом, где способ включает введение соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата) или фармацевтической композиции, содержащей их, субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления создание микросреды опухоли, поддающейся иммунному ответу, включает снижение локальных уровней иммуносупрессивных цитокинов и хемокинов, таких как IL-6 и G-CSF. В некоторых вариантах осуществления создание микросреды опухоли, поддающейся иммунному ответу, включает усиление инфильтрации и активации дендритных клеток (ДК) в опухоли.

В одном варианте осуществления представлен способ лечения рака, включающий введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически

приемлемой соли (например, тартрата) в сочетании с иммунотерапией. В другом варианте осуществления предлагается способ лечения рака, включающий введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) в сочетание с ингибитором тирозинкиназы.

В вариантах осуществления изобретения раком является рак груди. Рак груди делится на четыре основных молекулярных подтипа: (a) внутрипротоковый A, который является гормон-рецептор-положительным (эстроген-рецептор-положительным и/или прогестерон-рецептор-положительным), рецептор 2 эпидермального фактора роста человека (HER2)-отрицательным и имеет низкую экспрессию Ki-67 (клеточного маркера пролиферации); (b) внутрипротоковый B, который является гормон-рецептор-положительным, может быть HER2-положительным или отрицательным и имеет высокую экспрессию Ki-67; (c) HER2-обогащенный, который является гормон-рецептор-отрицательным и HER2-положительным; и (d) трижды негативный, который является гормон-рецептор-отрицательным и HER2-отрицательным.

В некоторых вариантах осуществления рак груди является гормон-рецептор-положительным. Гормон-рецептор-положительный рак молочной железы относится к раку молочной железы, который является положительным для экспрессии рецептора эстрогена и/или рецептора прогестерона. В некоторых вариантах осуществления раком молочной железы является внутрипротоковый A или внутрипротоковый B рак молочной железы. В конкретных вариантах осуществления способ лечения гормон-рецептор-положительного рака молочной железы (например, внутрипротокового A или внутрипротокового B рака молочной железы) включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) и назначение эффективного количества гормональной терапии. Гормональная терапия рака груди может относиться к терапии, которая снижает связывание эстрогена с рецептором эстрогена и/или снижает связывание прогестерона с рецептором прогестерона. В конкретных вариантах осуществления гормональная терапия включает тамоксифен, торемифен, фулвестрант или ингибитор ароматазы. Примеры ингибиторов ароматазы, используемых для лечения рака груди, положительного по рецепторам гормонов, включают анастрозол, экземестан и летрозол.

В некоторых вариантах осуществления рак груди является HER2-положительным. HER2-положительным раком молочной железы является рак молочной железы, который дает положительный результат теста на экспрессию HER2, например внутрипротоковый B или HER2-обогащенный рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления способ лечения HER2-положительного рака молочной железы включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) и введение эффективного количества ингибитора HER2. В некоторых вариантах осуществления ингибитор HER2 выбран из трастузумаба, пертузумаба, трастузумаба эмтанзина (т.е. TDM1), лапатиниба и нератиниба. В конкретных вариантах осуществления ингибитор HER2 является трастузумаб или

трастузумаб эмтанзин.

В некоторых вариантах осуществления раком груди является трижды негативный рак груди. Трижды негативным раком молочной железы является наиболее агрессивный молекулярный подтип рака молочной железы, не поддающийся лечению гормональной терапией или ингибиторами HER2.

Рак груди также можно разделить на воспалительный рак груди или не воспалительный рак груди. Воспалительный рак молочной железы представляет собой редкую, очень агрессивную форму рака молочной железы, которая диагностируется на основании клинических проявлений с симптомами воспаления в груди, включая эритему, отек, болезненность, повышение температуры и/или втяжение кожи. Воспалительный рак молочной железы может проявляться любым из молекулярных подтипов рака молочной железы (т.е. может быть гормон-рецептор-положительным и/или HER2-положительным, или может быть трижды негативным).

В некоторых вариантах осуществления раком является воспалительный рак молочной железы. Воспалительный рак молочной железы может быть гормон-рецептор-положительным и/или HER2-положительным, или может быть трижды негативным. Воспалительный рак молочной железы в некоторых случаях может поддаваться гормональной терапии и/или ингибиторам HER2, в зависимости от молекулярного подтипа. Учитывая, что воспалительный рак груди очень агрессивен, лечение часто включает радикальную мастэктомию в сочетании с химиотерапией и/или облучением.

В вариантах осуществления изобретения способы лечения рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы или воспалительного рака молочной железы) включают введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) и введение эффективного количества дополнительной терапии нуждающемуся в этом субъекту. Дополнительная терапия может быть, например, радиационной, хирургической (например, мастэктомия) или терапевтическим агентом (например, химиотерапевтическим агентом). В конкретных вариантах осуществления дополнительная терапия включает, по меньшей мере, одно из: ингибитора иммунной контрольной точки, ингибитора PARP, ингибитора WEE1, агента, нацеленного на EGFR, ингибитора CDK4/6, ингибитора PI3K, ингибитора TORC1/2, антрациклина или таксана.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения рака груди (например, трижды негативного рака молочной железы или воспалительного рака молочной железы) включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) и введение эффективного количества ингибитора иммунной контрольной точки нуждающемуся в этом субъекту. В конкретных вариантах осуществления ингибитором иммунных контрольных точек является ингибитор PD-L1, ингибитор PD-1, ингибитор CTLA-4, ингибитор LAG-3, ингибитор Tim-3 или их сочетание.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения рака груди (например,

трижды негативного рака молочной железы или воспалительного рака молочной железы) включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) и введение эффективного количества ингибитора PARP нуждающемуся в этом субъекту. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PARP выбирают из олапариба, нирапариба, талазопариба и велапариба. В конкретных вариантах осуществления ингибитором PARP является олапариб.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения рака груди (например, трижды негативного рака молочной железы или воспалительного рака молочной железы) включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) и введение эффективного количества ингибитора WEE1 нуждающемуся в этом субъекту. WEE1 является ядерной киназой, которая регулирует развитие клеточного цикла, а ингибирование WEE1 оказывает противораковое действие и может вызывать чувствительность раковых клеток к другим видам лечения, таким как цисплатин или радиация. В конкретных вариантах осуществления ингибитором WEE1 является AZD1775.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения рака груди (например, трижды негативного рака молочной железы или воспалительного рака молочной железы) включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) и введение эффективного количества агента, нацеленного на EGFR, нуждающемуся в этом субъекту. В конкретных вариантах осуществления агентом, нацеленным на EGFR, является лапатиниб, панитумумаб, цетуксимаб или эрлотиниб, гефетиниб или их сочетание.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения рака груди (например, трижды негативного рака молочной железы или воспалительного рака молочной железы) включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) и введение эффективного количества ингибитора CDK4 или CDK6 нуждающемуся в этом субъекту. В некоторых вариантах осуществления ингибитором CDK4 или CDK6 является пальбоциклиб, абемациклиб, рибоциклиб или их сочетание. В конкретных вариантах осуществления ингибитором CDK4 или CDK6 является палбоциклиб.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения рака груди (например, трижды негативного рака молочной железы или воспалительного рака молочной железы) включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) и введение эффективного количества ингибитора PI3K нуждающемуся в этом субъекту. Путь PI3K-AKT-mTOR обычно активируется при различных формах рака и способствует выживаемости раковых клеток при пролиферации. В некоторых вариантах осуществления ингибитором PI3K является AZD8186, GDC-0941, GDC-0980, иделалисиб (CAL-101), альпелисиб (BYL719), бупарлисиб (BKM120) или их сочетание. В конкретных вариантах осуществления

ингибитором PI3K является AZD8186.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения рака груди (например, трижды негативного рака молочной железы или воспалительного рака молочной железы) включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) и введение эффективного количества ингибитора TORC1/2 нуждающемуся в этом субъекту. В некоторых вариантах осуществления ингибитором TORC1/2 является AZD2014 (вистусертиб), TAK228 (INK128, MLN0128) или оба.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения рака груди (например, трижды негативного рака молочной железы или воспалительного рака молочной железы) включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) и введение эффективного количества антрациклина нуждающемуся в этом субъекту. «Антрациклин» относится к химическому классу соединений с интеркалирующей активностью и включает даунорубицин, доксорубицин, эпирубицин, идарубицин, неморубицин, пиксантрон, сабарубицин и валрубицин. В конкретных вариантах осуществления антрациклином является доксорубицин, даунорубицин или оба.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения рака груди (например, трижды негативного рака молочной железы или воспалительного рака молочной железы) включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) и введение эффективного количества таксана нуждающемуся в этом субъекту. Таксаны, используемые для лечения рака, представляют собой молекулы ди-терпена, которые ингибируют образование микротрубочек. В некоторых вариантах осуществления таксан включает паклитаксел, доцетаксел или оба.

В некоторых вариантах осуществления раком является рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления раком является карцинома почек. В некоторых вариантах осуществления раком является рак толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления раком является рак щитовидной железы. В некоторых вариантах осуществления раком является рак легких.

В некоторых вариантах осуществления раком является немелкоклеточный рак легкого. В некоторых вариантах осуществления способ лечения немелкоклеточного рака легкого (например, EGRF+ немелкоклеточного рака легкого) включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата). В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат) вводят в сочетании с ингибитором EGRF, иммунотерапией и/или ингибитором тирозинкиназы (например, ингибитором CDK9). В некоторых вариантах осуществления немелкоклеточный рак легкого включает опухоль, устойчивую к иммунотерапии. В некоторых вариантах осуществления немелкоклеточный рак легкого (например, EGRF+ немелкоклеточный рак

легкого) прогрессировал после введения ≤2 курсов ингибиторов тирозинкиназы (например, пероральных ингибиторов тирозинкиназы).

В некоторых вариантах осуществления раком является колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления колоректальный рак включает опухоль (опухоли), которая экспрессирует мутировавший BRAF, KRAS или NRAS. В некоторых вариантах осуществления способ лечения колоректального рака, включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) в сочетании с ингибитором EGFR. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение ингибитора иммунных контрольных точек (например, агентов, нацеленных на PD-L1, PD-1, CTLA-4, LAG-3 или Tim-3). В некоторых конкретных вариантах осуществления изобретения колоректальным раком является колоректальная карцинома с мутацией BRAF, KRAS или NRAS. В конкретных вариантах осуществления колоректальным раком является колоректальная карцинома с мутацией KRAS. В некоторых вариантах осуществления введение осуществляется после того, как были применены стандартные методы лечения.

В некоторых вариантах осуществления раком является рак яичников. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ лечения рака яичников включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата). В некоторых вариантах осуществления рак яичников является стойким или рецидивирующим. В некоторых конкретных вариантах осуществления рак яичников является трудноподдающимся лечению/резистентным к платине. В некоторых вариантах осуществления способ лечения рака яичников дополнительно включает введение соединения платины. В некоторых вариантах осуществления введение осуществляется после введения любого количества курсов предшествующих терапий.

В некоторых вариантах осуществления раком является меланома (например, меланома с мутацией BRAF). В некоторых вариантах осуществления способ лечения меланомы (например, меланомы с мутацией BRAF) включает введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата). В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) в сочетании с иммунотерапией или сочетанием ингибитора BRAF и MEK. В некоторых вариантах осуществления меланома (например, меланома с мутацией BRAF) не отвечает на иммунотерапию или сочетание ингибитора BRAF/MEK.

В одном конкретном варианте осуществления представлен способ лечения заболевания, включающий введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или фармацевтической композиции, содержащей соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат) субъекту, нуждающемуся в этом, где заболевание выбрано из группы, состоящей из распространенной солидной опухоли, EGFR+ немелкоклеточного рака легкого, колоректальной карциномы, рецидивирующей

карциномы яичников и меланомы с мутацией BRAF.

В другом варианте осуществления в раскрытии представлен способ ингибирования метастазов опухоли, включающий введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или фармацевтической композиции, содержащей соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I), например тартрат соединения структуры (I) и фармацевтически приемлемый носитель, субъекту, нуждающемуся в этом.

В одном варианте осуществления представлен способ лечения заболевания, включающий введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) или фармацевтической композиции, содержащей соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат), субъекту, нуждающемуся в этом, где заболеванием является колоректальный рак, например колоректальная карцинома. В некоторых вариантах осуществления изобретения колоректальный рак устойчив к терапии, направленной на EGFR.

Гематологические злокачественные новообразования, которые можно лечить соединением структуры (I) или его фармацевтически приемлемой солью (например, тартратом), включают, но не ограничиваются ими, лейкозы и лимфомы. Например, раскрытые здесь соединения и композиции можно использовать для лечения таких заболеваний, как острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (МЛЛ), хронический миелогенный лейкоз (ХМЛ), острый моноцитарный лейкоз (ОМоЛ) и/или другие лейкозы. В других вариантах осуществления соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат) применимы для лечения лимфом, таких как все подтипы лимфомы Ходжкина или неходжкинской лимфомы. В конкретных вариантах осуществления раскрытые здесь соединения и композиции можно использовать для лечения ХЛЛ и/или МЛЛ. В некоторых конкретных вариантах осуществления раскрытые здесь соединения и композиции можно использовать для лечения ХЛЛ. В некоторых конкретных вариантах осуществления раскрытые здесь соединения и композиции можно использовать для лечения МЛЛ.

Широкое разнообразие видов рака, включая солидные опухоли и лейкозы (например, острый миелоидный лейкоз и хронический лимфоцитарный лейкоз), поддаются лечению с помощью описанных здесь способов. Типы рака, которые можно лечить в различных вариантах осуществления, включают, но не ограничиваются ими: аденокарциному груди, простаты и толстой кишки; все формы бронхогенной карциномы легкого; миелоидный рак; меланому; гепатому; нейробластому; папиллому; апудому; хористому; бранхиому; злокачественный карциноидный синдром; карциноидный порок сердца; и карциному (например, карциному Уокера, базально-клеточную, базально-плоскоклеточную, опухоль Брауна-Пирса, протоковую, опухоль Эрлиха, опухоль Кребса

2, клеток Меркеля, муцинозную немелкоклеточную легочную, овсяноклеточную, папиллярную, чешуйчатую, бронхиолярную, бронхогенную, плоскоклеточную и переходноклеточную); гистиоцитарные нарушения; лейкоз; злокачественный гистиоцитоз; болезнь Ходжкина; иммунопролиферативный мелкоклеточный рак; плазмоцитому; ретикулоэндотелиоз; меланому; хондробластому; хондрому; хондросаркому; фиброму; фибросаркому; гигантоклеточные опухоли; гистиоцитому; липому; липосаркому; мезотелиому; миксому; миксосаркому; остеому; остеосаркому; хордому; краниофарингиому; дисгерминому; гамартому; мезенхимому; мезонефрому; миосаркому; амелобластому; цементому; одонтому; тератому; тимому; трофобластическую опухоль; аденому; холангиому; холестеатому; циклиндрому; цистаденокарциному; цистаденому; фолликулому; гинандробластому; гепатому; гидраденому; инсулиному; опухоль клеток Лейдига; папиллому; опухоль клеток Сертоли; текому; леймиому; лейомиосаркому; миобластому; миому; миосаркому; рабдомиому; рабдомиосаркому; эпендимому; ганглионеврому; глиому; медуллобластому; менингиому; невриному; нейробластому; нейроэпителиому; нейрофиброму; неврому; параганглиому; не хромаффинную параганглиому; ангиокератому; ангиолимфоидную гиперплазию с эозинофилией; склерозирующую ангиому; ангиомутоз; гломунгиому; гемангиоэндотелиому; гемангиому; гемангиоперицитому; гемангиосаркому; лимфангиому; лимфангиомиому; лимфангиосаркому; пинеалому; карциносаркому; хондросаркому; филлоидную цистосаркому; гемангиосаркому; лейомиосаркому; лейкосаркому; липосаркому; лимфангиосаркому; миосаркому; миксосаркому; рак яичников; рабдомиосаркому; саркому; новообразования; нерофибромутоз; и дисплазию шейки матки.

В еще одном аспекте рак выбран из рака мозга, мочеполовых путей, эндокринной системы, желудочно-кишечного тракта, крови, прямой кишки, почек, лимфатической системы, желудка и кожи.

В некоторых вариантах осуществления рака выбран из рака у подростков, детской адренокортикальной карциномы, рака, связанного со СПИД (например, лимфомы и саркомы Капоши), рака анального канала, рака аппендикса, астроцитом, атипичного тератоида, базальноклеточной карциномы, рака желчных протоков, рака мочевого пузыря, рака кости, глиомы ствола головного мозга, опухоли головного мозга, рака груди, опухоли бронхов, лимфомы Беркитта, карциноидной опухоли, атипичного тератоида, эмбриональных опухолей, опухоли половых клеток, первичной лимфомы, рака у подростков, рака шейки матки, детских раковых заболеваний, хордомы, сердечных опухолей, хронических миелопролиферативных заболеваний, рака толстой кишки, колоректального рака (например, колоректального рака, устойчивого к терапии, направленной на EGFR), краниофарингиомы, кожной Т-клеточной лимфомы, внепеченочной протоковой карциномы in situ (DCIS), эмбриональных опухолей, рака ЦНС, рака эндометрия, эпендимомы, рака пищевода, эстезионейробластомы, саркомы Юинга, экстракараниальной герминогенной опухоли, внегонадной герминогенной опухоли, рака глаза, фиброзной гистиоцитомы костей, рака желчного пузыря, рака

желудка, стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта (GIST), карциноидной опухоли желудочно-кишечного тракта, опухоли половых клеток, трофобластической опухоли беременных, волосистоклеточного лейкоза, рака головы и шеи, рака сердца, рака печени, рака гипофарингеальной области, внутриглазной меланомы, инсулином, нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы, рака почек, рака гортани, рака губ и полости рта, рака печени, лобулярной карциномы in situ (LCIS), рака легких, лимфомы, метастатического плоскоклеточного рака шеи с скрытым первичным очагом, карциномы среднего тракта, рака ротовой полости, синдромов множественной эндокринной неоплазии, множественной миеломы/новообразований клеток плазмы, грибовидного микозы, миелодиспластических синдромов, миелодиспластических/миелопролиферативных новообразований, таких как миелофиброз, множественная миелома, карциномы клеток Меркеля, злокачественной мезотелиомы, злокачественной фиброзной гистиоцитомы костей и остеосаркомы, рака полости носа и околоносовых пазух, рака носоглотки, нейробластомы, рака ротовой полости, рака губ и полости рта, рака ротоглотки, рака яичников, рака поджелудочной железы, папилломатоза, параганглиомы, рака околоносовых пазух и полости носа, рака паращитовидной железы, рака полового члена, рака глотки, плевролегочной бластомы, лимфомы первичной центральной нервной системы (ЦНС), рака простаты, рака прямой кишки, переходно-клеточного рака, ретинобластомы, рабдомиосаркомы, рака слюнной железы, рака кожи, рака желудка (желудочного), мелкоклеточного рака легких, рака тонкой кишки, саркомы мягких тканей, Т-клеточной лимфомы, рака яичек, рака горла, тимомы и карциномы тимуса, рака щитовидной железы, переходно-клеточного рака почечной лоханки и мочеточника, трофобластической опухоли, необычных видов рака у детей, рака уретры, саркомы матки, рака влагалища, рака вульвы, вирусного рака, акустической шванномы, глиомы, менингиомы, аденомы гипофиза, шванномы, лимфомы ЦНС, примитивной нейроэктодермальной опухоли, краниофарингиомы, хордомы, медуллобластомы, церебральной нейробластомы, центральной нейроцитомы, пинеоцитомы, пинеобластомы, атипичной тератоидно-рабдоидной опухоли, хондросаркомы, карциномы сосудистого сплетения, папилломы сосудистого сплетения, краниофарингиомы, дизэмбриопластической нейроэпителиальной опухоли, ганглиоцитомы, герминомы, гемангиобластомы, гемангиоперицитомы, дизэмбриопластической нейроэпителиальной опухоли, ганглиоцитомы, герминомы, гемангиобластомы, гемангиоперцитомы, метастатических клеток опухоли головного мозга и глиомы (например, мультиформной глиобластомы, эпендимомы, астроцитомы, олигодендроглиомы, олигоастроцитомы, юношеской пилоидной астроцитомы, субэпендимальной гигантоклеточной астроцитомы, ганглиоглиомы, субэпендимомы, плеоморфной ксантоастроцитомы, анапластической астроцитомы, мультиформной глиобластомы, глиомы ствола головного мозга, олигодендроглиомы, эпендимомы, олигоастроцитомы, мозжечковой астроцитомы, десмопластической детской астроцитомы, субэпендимальной гигантоклеточной астроцитомы, диффузной астроцитомы, смешанной

глиомы, глиома оптических путей, церебрального глиоматоза, параганглиомы или ганглиоглиомы клеток).

Варианты осуществления изобретения также включают способ лечения гиперпролиферативного заболевания у млекопитающего, который включает введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата). В некоторых вариантах осуществления способ относится к лечению доброкачественного гиперпролиферативного заболевания, такого как доброкачественная гиперплазия кожи (например, псориаз), рестеноз или простата (например, доброкачественная гипертрофия простаты (ДГП)). В некоторых вариантах осуществления способ относится к применению соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата) для лечения фиброза, включая, но не ограничиваясь этим, фиброз легких (например, идиопатический фиброз легких) и фиброз печени.

В некоторых вариантах осуществления изобретение представляет способы ингибирования активности киназы в клетке путем контакта указанной клетки с некоторым количеством соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата), достаточным для подавления активности AXL киназы. В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способам ингибирования активности AXL киназы в ткани путем контакта указанной ткани с некоторым количеством соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата), достаточным для подавления активности AXL киназы в указанной ткани. В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способам ингибирования активности AXL киназы в организме путем контакта указанного организма с некоторым количеством соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата), достаточным для подавления активности AXL киназы в указанном организме. В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способам ингибирования активности AXL киназы у животного путем контакта указанного животного с некоторым количеством соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата), достаточным для подавления активности AXL киназы у указанного животного. В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способам ингибирования активности AXL киназы у млекопитающего путем контакта указанного млекопитающего с некоторым количеством фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата), достаточным для ингибирования активности AXL киназы у указанного млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способам ингибирования активности AXL киназы у человека путем контакта указанного человека с некоторым количеством соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры

(I) (например, тартрата), достаточным для подавления активности AXL киназы у указанного человека. В других вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам лечения заболевания, медиированного активностью AXL киназы, у субъекта, нуждающегося в таком лечении.

В некоторых конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения представлен способ лечения хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ) путем введения ингибитора AXL киназы, такого как соединение структуры (I), или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат), субъекту, нуждающемуся в этом. В некоторых вариантах осуществления способы по раскрытию лечат ХЛЛ и мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (МЛЛ). В некоторых вариантах осуществления субъекта ранее лечили от ХЛЛ, но он все еще проявляет симптомы обнаруживаемого минимального остаточного заболевания (МОЗ). Соответственно, в одном варианте осуществления представлен способ лечения ХЛЛ у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества ингибитора AXL киназы, где субъект ранее получал схему лечения ХЛЛ, и субъект был невосприимчивым после проведенной ранее схемы лечения, у субъекта имеется рецидив ХЛЛ после ответа на проведенную ранее схему лечения, или у субъекта обнаруживается минимальное остаточное заолевание (МОЗ).

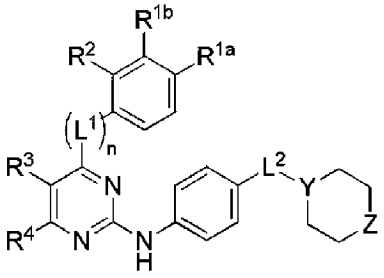
Согласно пересмотренным рекомендациям IWCLL, субъект с диагнозом ХЛЛ считается находящимся в «полной ремиссии», если количество лимфоцитов периферической крови (циркулирующих) является нормальным, отсутствует значительная лимфаденопатия (например, лимфатические >1,5 см в диаметре) при физическом обследовании, нормальный размер печени и селезенки <13 см, отсутствуют системные симптомы, количество тромбоцитов больше или равно 100000/мкл, гемоглобин больше или равен 11,0 г/дл (без переливания и без эритропоэтина) и нормоклеточный костный мозг (без клеток ХЛЛ, без В-лимфоидных узелков). Субъект с диагнозом ХЛЛ соответствует критериям «частичной ремиссии», если количество лимфоцитов периферической крови (циркулирующих) уменьшается на ≥50% от исходного уровня, лимфатические узлы уменьшаются на ≥50% от исходного уровня, размеры печени и селезенки уменьшаются на ≥50% от исходного уровня, количество тромбоцитов больше или равно 100000/мкл или увеличивается ≥50% от исходного уровня, гемоглобин выше или равен 11,0 г/дл или увеличивается ≥50% от исходного уровня, но при этом в костном мозге все еще присутствуют клетки ХЛЛ или В-лимфоидные узелки. Для «частичной ремиссии» должен быть соблюден хотя бы один параметр из первых трех параметров и один параметр из вторых трех параметров. Термин «рецидив» относится к прогрессированию заболевания у пациента, который ранее достиг вышеуказанных критериев CR или PR в течение шести или более месяцев. В конкретных вариантах осуществления субъект был невосприимчивым к предыдущей схеме лечения. В конкретных вариантах осуществления у субъекта был рецидив ХЛЛ после ответа на предыдущую схему лечения. В конкретных вариантах осуществления у субъекта

обнаруживается минимальное остаточное заболевание (МОЗ).

В некоторых вариантах осуществления субъекта ранее лечили от ХЛЛ и/или МЛЛ. В некоторых вариантах осуществления субъект не переносит предыдущую схему лечения. Используемый здесь термин «непереносимость» означает, что субъект неспособен или не желает терпеть неблагоприятные эффекты эффективного количества терапевтического агента.

Определяемое МОЗ относится к болезненному состоянию, при котором у субъекта имеется по меньшей мере 1 клетка ХЛЛ на 10000 лейкоцитов в образце периферической крови или костного мозга. Процент МОЗ относится к проценту клеток ХЛЛ относительно лейкоцитов в образце периферической крови или костного мозга. Например, субъект, имеющий 1 клетку ХЛЛ на 10000 лейкоцитов, классифицируется как имеющий 0,01% МОЗ. МОЗ можно определить из периферической крови и/или костного мозга с использованием методик, известных в данной области техники, например иммунофенотипирования (например, проточной цитометрии) или молекулярных анализов (например, полимеразной цепной реакции и секвенирования нового поколения), как описано в JAMA Oncology, March 2018, Volume 4, Number 3, P. 394-400, и Blood, March 2018, blood-2017-09-806398, которые включены сюда в качестве ссылки.

Типичные ингибиторы AXL киназы, применимые для лечения ХЛЛ и/или МЛЛ, такого как ХЛЛ с обнаруживаемым МОЗ, и другие варианты осуществления изобретения известны в данной области, например, как описано в WO 2012/135800 и WO 2008/128072, полное раскрытие из которых полностью включены в настоящий документ в качестве ссылки. Типичные ингибиторы AXL киназы включают соединения, имеющие следующую структуру (I'):



(I')

или их фармацевтически приемлемую соль, гидрат, сольват или полиморф, где:

L^1 выбирают из O и NR^5, где R^5 выбирают из водорода и C_1-C_6 алкила;

L^2 выбирают из CH_2 и NCH_3, при условии, что L^2 является CH_2, когда Y является N;

Y выбирают из CH и N;

Z выбирают из O, NR^6 и CH_2, где R^6 выбирают из водорода и CH_3;

каждый из R^{1a} и R^{1b} независимо выбирают из водорода, галогена, OH, CN, SO_2CH_3, C_1-C_6 алкила, C_1-C_6 алкокси, C_1-C_6 галогеналкокси, C_1-C_6 полигалогеналкокси, C_1-C_6 галогеналкила, C_1-C_6 полигалогеналкила, C_1-C_6 цианоалкила и $NH(C=O)R^7$, R^7 выбирают из водорода и C_1-C_6 алкила;

R^2 выбирают из водорода, C_1-C_6 алкила, SO_2R^8 и $(C=O)R^8$, где R^8 выбирают из

водорода, C_1-C_6 алкила, C_3-C_6 циклоалкила, C_3-C_6 гетероциклоалкила и $NR^{10}R^{11}$, где: a) R^{10} выбирают из водорода, C_1-C_6 алкила и C_3-C_6 циклоалкила; и R^{11}, если он присутствует, выбирают из водорода и C_1-C_6 алкила; или b) R^{10} и R^{11} ковалентно связаны и, вместе с промежуточным азотом, содержат необязательно замещенное 3-7-членное гетероциклоалкильное кольцо;

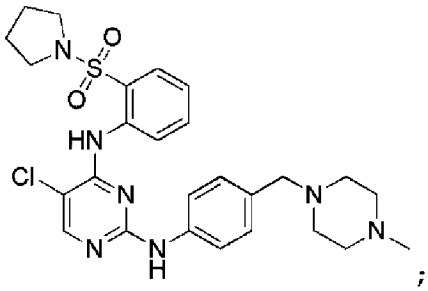
R^3 выбирают из водорода, галогена, OH, CN, C_1-C_6 алкила, C_1-C_6 галогеналкила, C_1-C_6 полиалкила, C_3-C_6 циклоалкила, C_3-C_6 галогеналкила, C_3-C_6 полигалогеналкила и C_3-C_6 гетероциклоалкила;

R^4 выбирают из водорода, галогена, Ar^1, C_1-C_6 алкила, C_3-C_6 циклоалкила и C_3-C_6 гетероциклоалкила, где Ar^1 является фенилом, замещенным 0-3 заместителями, независимо выбранными из циано, C_1-C_6 алкила, C_1-C_6. галогеналкиокси, C_1-C_6 галогеналкила и C_1-C_6 полигалогеналкила, C_1-C_6 цианоалкила, SO_2R^{12}, C_1-C_3 алкила, C_1-C_3 алкиламин и C_1-C_3 диалкиламино; или Ar^1 является моноциклическим гетероарилом, замещенным 0-3 заместителями, независимо выбранными из галогена, циано, C_1-C_6 алкила, C_1-C_6 галогеналкиокси, C_1-C_6 галогеналкила и C_1-C_6 полигалогеналкила, C_1-C_6 цианоалкила, SO_2R^{12}, C_1-C_3 алкила, C1-C3 алкиламина и C1-C3 диалкиламино, где R^{12} выбирают из C_1-C_6 алкила и C_3-C_6 циклоалкила; а также

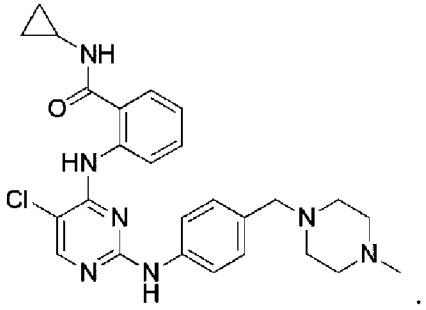
n равно 0 или 1.

Заместители для соединений структуры (I') определены в WO 2012/135800.

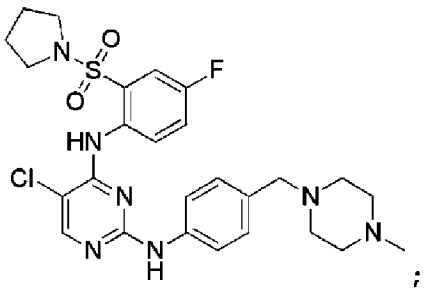
В некоторых вариантах осуществления иллюстративные ингибиторы AXL киназы выбраны из следующих или их фармацевтически приемлемой соли:

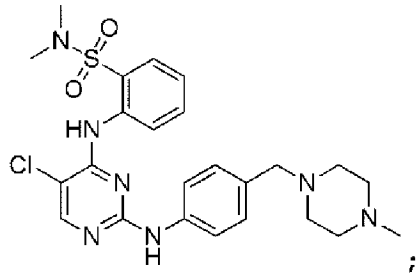


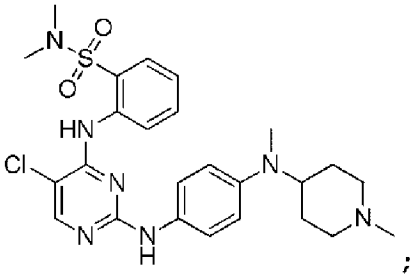
;

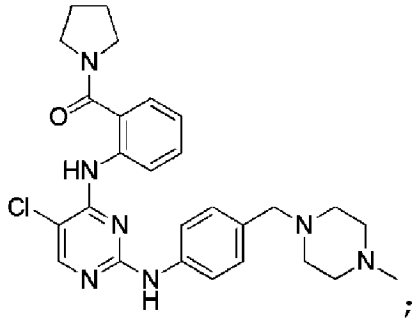


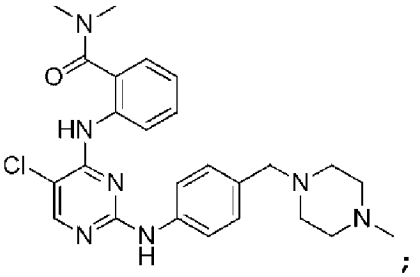
;

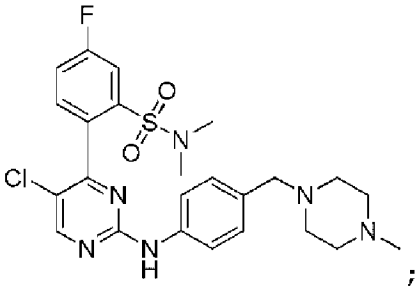

;

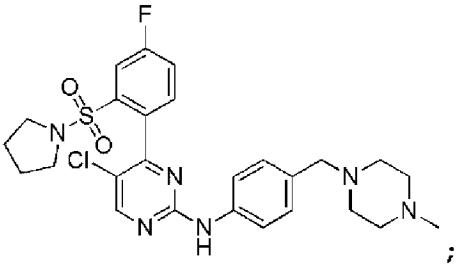

;

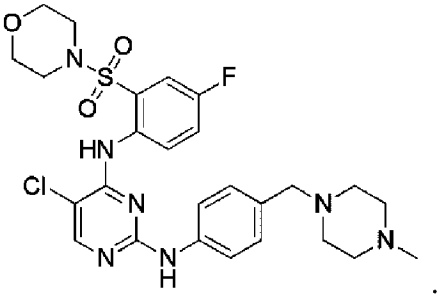

;

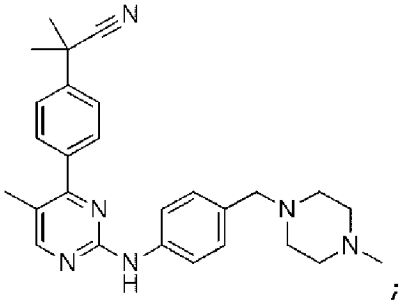

;

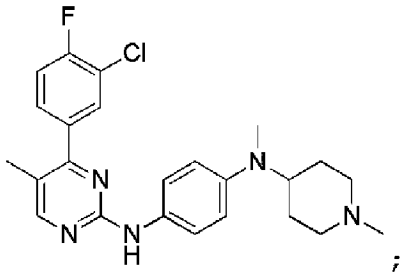

;

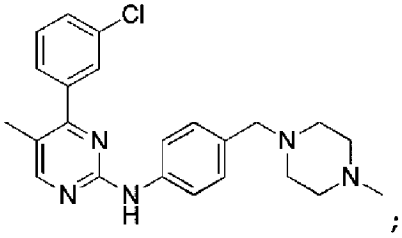

;

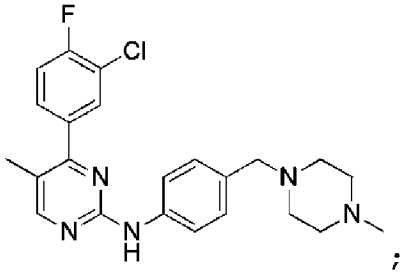

;

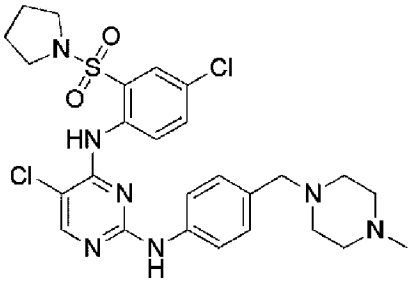

;

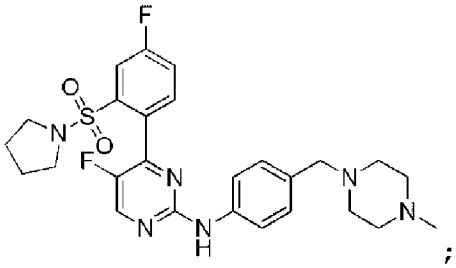

;

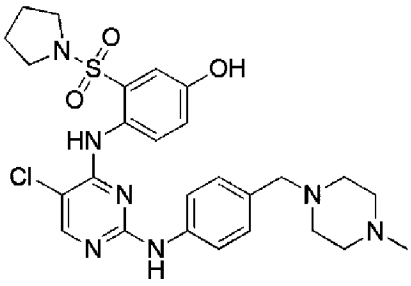

;

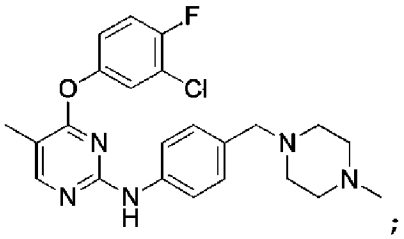

;

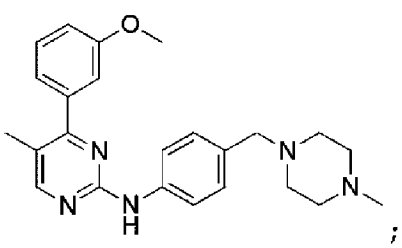

;

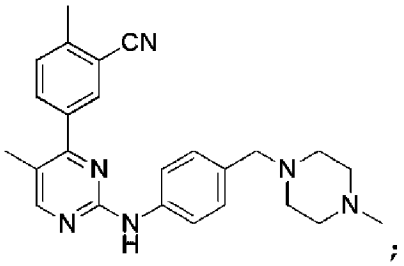

;

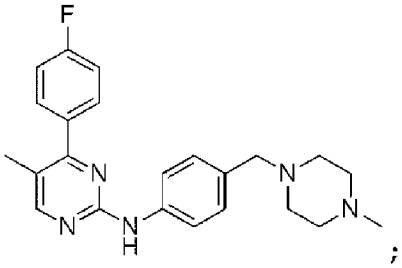

;

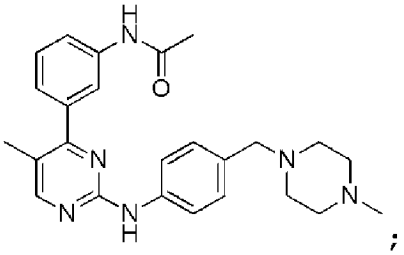

;

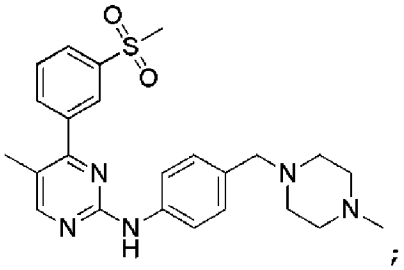

;

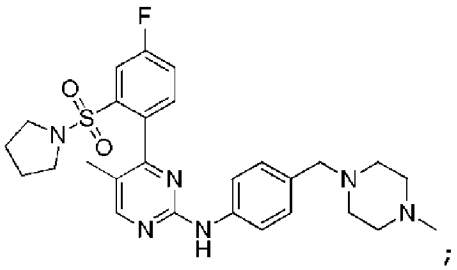

;

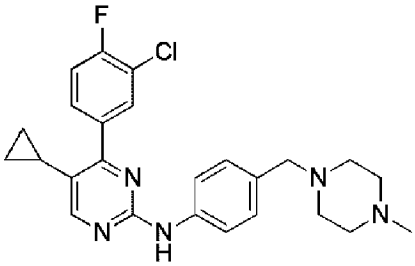

;

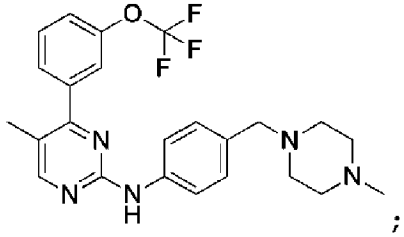

;

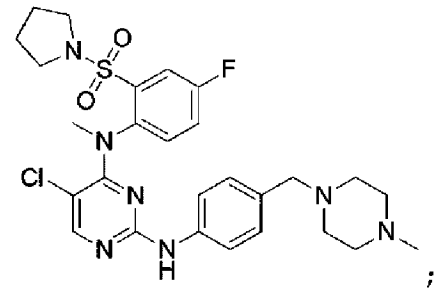

;

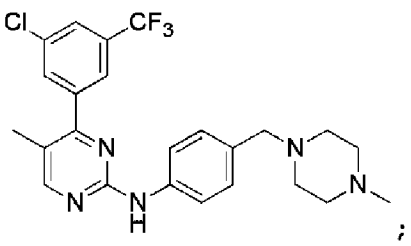

;

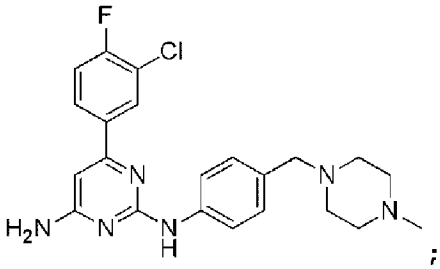

;

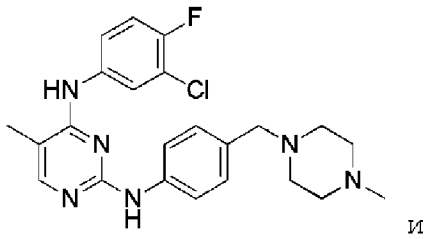

;

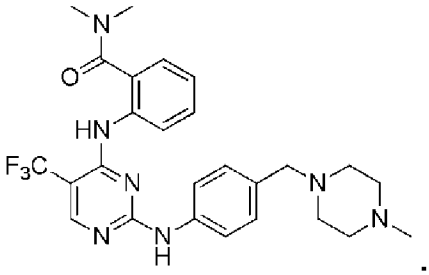

;


;


;


;


и


.

В некоторых более конкретных вариантах осуществления ингибитором AXL киназы является соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль. В определенном варианте осуществления ингибитором AXL киназы является тартрат соединения структуры (I), как раскрыто в данном документе.

В определенных вариантах осуществления вышеизложенного, предыдущая схема лечения включает лечение антагонистом передачи сигналов рецептора В-клеток (например, ингибитором тирозинкиназы Брутона (BTK), SYK или PI3K) или ингибитором Bcl-2, или обоими. В других вариантах осуществления субъект не подходит для лечения антагонистом передачи сигналов В-клеточного рецептора или ингибитором Bcl-2, или обоими способами. В различных вариантах осуществления у субъекта имеется непереносимость лечения антагонистом передачи сигналов В-клеточного рецептора или ингибитором Bcl-2, или обоими.

В некоторых вариантах осуществления антагонистом передачи сигналов рецептора В-клеток является ингибитор BTK. Примеры ингибиторов BTK, которые могут быть включены в определенные варианты осуществления предыдущей схемы лечения, включают ингибиторы, известные в данной области техники, такие как описаны в публикациях PCT №№: WO 2014/052365; WO 2015/048689; WO 2015/002894; WO 2014/168975; WO 2014/159745; WO 2014/130693; WO 2014/078578; WO 2014/018567; WO 2013/184572; WO 2013/173518; WO 2013/116382; WO 2013/102059; WO 2013/059738; WO 2013/010136; WO 2011/153514; WO 2011/046964; WO 2010/009342; WO 2008/121742; WO 2008/054827; WO 2008/039218; WO 2007/087068; и в публикациях США. №№:

2015/0018336; 2014/0336206; 2014/0243355; 2014/0212485; 2014/0194446/ 2014/0187564; 2014/0135347; 2014/0128414; 2014/0187565; 2014/0171453; 2014/0163027; 2014/01663046; 2014/0142126; 2014/0142123; 2014/0128413; 2014/0079690; 2014/0080844; 2014/0057907; 2014/0039168; 2013/0338172; 2013/0310402; 2013/0273030; 2013/0197014; 2013/0035334; 2013/0012525; 2012/0283277; 2012/0283276; 2012/0277254; 2012/0252821; 2010/0331350, полные раскрытия которых включены сюда в качестве ссылки во всей своей полноте.

В некоторых вариантах осуществления ингибитором BTK является ONO-4059, AVL-292, SNS-062, CNX-774, CGI-1746, RN486 или ACP-196, соединения которых известны в данной области. В некоторых конкретных вариантах осуществления ингибитором BTK является ибрутиниб.

В некоторых вариантах осуществления антагонистом передачи сигналов рецептора B-клеток является ингибитор SYK или ингибитор PI3Kгамма/дельта. В некоторых вариантах осуществления ингибитором SYK является фостаматиниб, энтосплетиниб, цердулатиниб или TAK-659. В некоторых вариантах осуществления ингибитором PI3Kгамма/дельта является идеалализиб, дубелисиб, TGR-1202 или ACP-319/AMG-319.

Ингибитор Bcl-2, который может быть включен в определенные варианты предыдущей схемы лечения, включает такие, которые известны в данной области. Например, в некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления ингибитором BCL-2 является Венетоклакс (т.е. ABT-199). В некоторых других вариантах осуществления ингибитором Bcl-2 является антисмысловое олигонуклеотидное лекарственное средство (например, облимерсен), миметик BH3 (например, ABT-737, ABT-737-d8 или навитоклакс/ABT-263 или ABT-263-d8), новый не пептидный ингибитор (например, TW-37), ингибитор pan-BCL-2 (например, Сабутоклакс, Обатоклакс), ингибитор взаимодействия домена Bcl-2 xl/BH3 (например, BH3I-1), ингибитор BCL-xl (например, A-1331852 или A-1155463), не пептидный лиганд BCL-2 (например, HA14-1), активатор Bax (например, BAM7), низкомолекулярный антагонист домена BCL-2/BH4 (например, BDA-366), флавоноид (например, ликохалкон A). В некоторых конкретных вариантах осуществления ингибитором BCL-2 является FX1, AT-101, A-1210477, гуммигутовая кислота, UMI-77, Госсипол, галлат (-)-эпигаллокатехина, EM20-25, нилотиниб или нилотиниб-d3, YC137, AG 1024 , 3-бромпировиноградная кислота, Флувастатин, Пиперлонгумин, 2,3-DCPE, 2-метоксиантимицин A3 или Маринопиррол A (т.е. Маритоклакс).

В различных вариантах осуществления субъект имеет МОЗ более 0,01%, по данным иммунофенотипического (например, проточной цитометрии) или молекулярного (например, полимеразной цепной реакции и секвенирования нового поколения) анализа периферической крови или образца костного мозга от субъекта. В некоторых вариантах осуществления субъект имеет МОЗ более 0,1%, по данным иммунофенотипического или молекулярного анализа образца периферической крови или костного мозга от субъекта. В различных вариантах осуществления субъект имеет МОЗ более 1,0%, по данным иммунофенотипического или молекулярного анализа образца периферической крови или

костного мозга от субъекта. В еще большем количестве вариантов осуществления субъект имеет МОЗ от 0,01% до 1,0%, по данным иммунофенотипического или молекулярного анализа образца периферической крови или костного мозга от субъекта.

В некоторых вариантах осуществления МОЗ определяется на основе % МОЗ в периферической крови. В других вариантах осуществления МОЗ определяется на основе % МОЗ в костном мозге.

Способ лечения ХЛЛ с определяемым МОЗ может дополнительно включать определение количества клеток ХЛЛ и лейкоцитов в образце периферической крови или костного мозга от субъекта. Этап определения может быть выполнен согласно способу in vitro, известному в данной области техники и описанному выше. Альтернативно определение основывается на обзоре данных, полученных с помощью описанного выше метода in vitro.

Способ также может дополнительно включать категоризацию пациента как имеющего МОЗ, если количество клеток ХЛЛ на 10000 лейкоцитов больше 1, или категоризацию пациента как имеющего МОЗ, если количество клеток ХЛЛ на 10000 лейкоцитов составляет от 1 до 100.

2. Биомаркеры

В различных вариантах осуществления способы настоящего раскрытия включают определение уровней экспрессии, концентрации в тканях или наличия одного или нескольких маркеров. В некоторых вариантах осуществления маркеры включают один или несколько из Snail, Slug, AXL (например, AXL, Фосфо AXL, Фосфо/Общий AXL, растворимый AXL и т. д.), AKT (например, Фосфо/Общий AKT), MMP, mTOR, PI3K, p38, JAK, STAT, SOCS1, SOCS3, PTEN, ERK, H2AX, CCNE, β-катенина, P-гликопротеина 1, GAS6, ретиноевой кислоты, белка S, sMerTK, интерлейкина (IL) 1β, IL2r/CD25, IL2 , IL4, IL5, IL6, IL8, IL10, IL12, IL13, IL17, TNF-α, IFNγ, CSF2, CSF3, CCL2, sPD-L1/PD-L1, sPD-1/PD-1, sPD-L1/sPD-1, sCD163/CD163, E-кадгерина, N-кадгерина, Twist, FLT3, CDH1, CDH2, ZEB1, ADH1A, APOA2, ALDH1A2, CD38, CYP26A1, CYP26B1, DHRS3, DLX5, LGR1, FOXA1, HSD1, HNP1, LHX1, PPARG, RARA, RARB, RBP4, RXRG, SHH, STRA6, TGM2 и UCPI. В некоторых вариантах осуществления способы настоящего раскрытия могут включать определение уровней экспрессии, концентраций в тканях или присутствия одного или нескольких из ADH1A, APOA2, ALDH1A2, CD38, CYP26A1, CYP26B1, DHRS3, DLX5, LGR1, FOXA1, HNP1B, HSD17B2, ISL1, LHX1, PPARG, RARA, RARB, RBP4, RXRG, SHH, STRA6, TGM2 и UCPI. В конкретных вариантах осуществления один или несколько маркеров содержат AXL и/или GAS6. В некоторых вариантах осуществления один или несколько маркеров содержат AXL. В конкретных вариантах осуществления один или несколько маркеров содержат растворимый AXL. В некоторых вариантах осуществления один или несколько маркеров содержат GAS6. В некоторых вариантах осуществления один или несколько маркеров содержат растворимый GAS6.

В некоторых вариантах осуществления способы настоящего раскрытия могут включать определение экспрессии маркеров активированных клеток (например,

дендритных клеток, таких как CD86 и CD11c). В некоторых вариантах осуществления способ настоящего раскрытия может включать определение экспрессии маркеров, специфичных для обнаружения ХЛЛ, включая CD5, CD19, CD20, CD23, CD38, CD43, CD45, CD79b, CD81, легкие цепи каппа, легкие цепи лямбда и β2-микроглобулин сыворотки. В некоторых вариантах осуществления способ настоящего раскрытия может включать определение мутаций в генах, связанных с ХЛЛ, включая del(17p), TP53 и IGHV. В некоторых вариантах осуществления уровень маркера измеряется в любом подходящем образце ткани. Например, уровень маркера может быть измерен в одном или нескольких продуктах крови субъекта (например, плазме крови, сыворотке крови, мононуклеарных клетках периферической крови, видах опухолевых ДНК, циркулирующих в виде внеклеточной ДНК (вкДНК), циркулирующих опухолевых клетках (ЦКО), циркулирующих опухолевых ДНК (цоДНК), циркулирующая миРНК и подобных). В конкретных вариантах осуществления образцом является образец цельной крови, образец сыворотки или образец плазмы. В конкретных вариантах осуществления образцом является образец цельной крови. В других вариантах осуществления образцом является образец сыворотки. В других вариантах осуществления образцом является образец плазмы.

Уровни экспрессии, концентрации в тканях или присутствие маркеров можно измерить с помощью любых подходящих методик, таких как иммуноферментный анализ (ELISA), масс-спектрометрия (МС), количественная ПЦР в реальном времени (РВ-кПЦР), проточная цитометрия, секвенирование нуклеиновых кислот (например, ДНК, РНК и т.д.), секвенирование аминокислот (например, пептида, белка и т.д.), молекулярная цитогенетическая флуоресцентная гибридизация in situ (FISH) и подобные.

В различных вариантах осуществления один или несколько маркеров, описанных в данном документе, могут быть положительно регулированы. «Положительная регуляция» или «положительно регулируемый» относится к увеличению присутствия белка и/или увеличению экспрессии его гена. В различных вариантах осуществления один или несколько маркеров могут быть отрицательно регулированы. «Отрицательная регуляция» или «отрицательно регулируемый» относится к уменьшению присутствия белка и/или снижению экспрессии его гена. Кроме того, функция белка может быть проанализирована соответствующим анализом активности. Примеры анализов активности включают анализы связывания, анализы ферментной активности, включая, например, протеазные анализы, киназные анализы, фосфатазные анализы, редуктазные анализы и т. д.

Положительную или отрицательную регуляцию маркеров можно оценить путем сравнения значения с соответствующим контрольным уровнем. Например, количество одного или нескольких маркеров может быть указано как значение, которое может быть получено, например, путем измерения уровня(ей) маркера(ов) в образце с помощью проведенного анализа. В самом широком смысле значение может быть качественным или количественным. Если определение является качественным, системы и способы обеспечивают считывание или оценку, например оценку того, присутствует ли маркер в

анализируемом образце. В еще других вариантах осуществления системы и способы обеспечивают количественное определение того, присутствует ли маркер в анализируемом образце, т.е. определение или оценку фактического количества или относительного содержания маркера в анализируемом образце. В таких вариантах осуществления количественное определение может быть абсолютным или, если способом является способ обнаружения двух или более разных маркеров в образце, относительным. Соответственно, термин «количественная оценка» при использовании в контексте количественной оценки маркера в образце может относиться к абсолютной или относительной количественной оценке. Абсолютная количественная оценка может быть получена путем включения известной концентрации(ий) одного или нескольких контрольных маркеров и сравнения, например, нормализации, определенного уровня маркера с известными контрольными маркерами (например, через построение стандартной кривой). Относительная количественная оценка может быть получена сравнением определенных уровней или количеств маркера и контроля (например, GAPDH или актина), с получением относительной количественной оценки маркера, например, относительно контроля. Альтернативно, относительная количественная оценка может быть получена сравнением определенных уровней или количеств между двумя или более разными маркерами, чтобы обеспечить относительную количественную оценку каждого из двух или более маркеров, например, относительно друг друга.

В некоторых вариантах осуществления изобретения биомаркером для идентификации пациентов, подходящих для лечения любым из раскрытых здесь способов, может быть растворимый AXL, GAS6 или мезенхимальный фактор транскрипции. Пациент, имеющий повышенный уровень одного или нескольких биомаркеров по сравнению со ссылочным уровнем, может быть идентифицирован как подходящий для лечения, описанного здесь. Контрольный уровень может быть уровнем соответствующего биомаркера в контрольном образце, который может быть измерен с использованием того же способа для измерения биомаркера в образце пациента-кандидата. Контроль может быть (или может быть получен от) от нормального субъекта (или нормальных субъектов). Нормальные субъекты в контексте настоящего описания относятся к субъектам, которые кажутся здоровыми и не проявляют признаков или симптомов целевого рака, как описано в данном документе. Следовательно, группа контрольных субъектов может быть популяцией нормальных субъектов. Альтернативно, контрольный образец может быть (или может быть получен) от субъекта или субъектов, страдающих целевым раком, которые не реагируют на один или несколько предыдущих способов лечения рака, например, описанных здесь. В некоторых вариантах осуществления контрольный образец может быть (или может быть получен) от субъекта, которого оценивают на чувствительность к противораковой терапии (например, описанной здесь).

В конкретных примерах биомаркером является растворимый AXL. Контрольный уровень может быть пороговым значением концентрации растворимого AXL в сыворотке, указывающим на прогноз заболевания и/или пригодность для схем лечения, описанных в

данном документе. В некоторых примерах пороговое значение растворимого AXL может составлять менее 41000 пг/мл, что может указывать на высокий риск прогрессирования заболевания. В других примерах пороговое значение может быть больше примерно 42000 пг/мл, что может указывать на вероятность стабильного заболевания. Пороговые значения можно использовать для выявления пациентов, имеющих определенные прогностические характеристики для лечения.

Измерение маркеров (то есть уровня маркера) можно проводить на уровне белка или нуклеиновой кислоты с использованием любого способа, известного в данной области. В некоторых вариантах осуществления измерение включает измерение уровня мРНК или уровня белка. В конкретных вариантах осуществления измерение включает измерение уровня мРНК.

В некоторых вариантах осуществления маркер определяют при контакте образца с реагентами (например, антителами или праймерами нуклеиновых кислот), создании комплексов реагента и маркера(ов) и определении комплексов. Антитела могут быть конъюгированы с твердой подложкой, подходящей для диагностического анализа, в соответствии с известными методами, такими как пассивное связывание. Антитела могут быть конъюгированы с поверхностноклеточными антигенами для диагностического анализа в соответствии с известными методами, такими как проточная цитометрия, включая многоцветную проточную цитометрию. Антитела или праймеры нуклеиновых кислот могут быть конъюгированы с определяемыми метками или группами, такими как радиоактивные метки, ферментные метки и флуоресцентные метки, в соответствии с известными методами.

Примеры подходящих иммуноанализов включают иммуноблоттинг, иммунопреципитацию, иммунофлуоресценцию, хемилюминесценцию, электрохемилюминесценцию (ЭХЛ) и ELISA. Положительная или отрицательная регуляция маркеров также может быть определена с использованием, например, кДНК-чипов, гибридизации клонов, дифференциального отображения, дифференциального скрининга, FRET определения, жидкостных микрочипов, ПЦР, ОТ-ПЦР, секвенирования по Сэнгеру, массово-параллельного (нового поколения) секвенирования, молекулярных маяков, микроэлектрических матриц, олигонуклеотидных матриц, полинуклеотидных матриц, серийного анализа экспрессии генов (SAGE) и/или вычитающей гибридизацией.

Примеры анти-AXL антител включают AF154 (доступный от R&D SYSTEMS®) и MM0098-2N33 (доступный от ABCAM®). Примеры анти-GAS6 антител включают A-9 (доступный от SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY®) и AF986 (доступный от R&D SYSTEMS®). Праймеры нуклеиновых кислот могут быть созданы с использованием известных методик на основе последовательности гена AXL (NCBI Gene ID: 558) или GAS6 (NCBI Gene ID: 2621).

Уровень маркера может быть определен в образце, взятом у субъекта до лечения. В таких вариантах осуществления уровни маркеров можно использовать для прогнозирования реакции на конкретное лечение. В некоторых вариантах осуществления

уровень маркера субъекта может использоваться для выбора подходящей схемы лечения. В некоторых вариантах осуществления уровни могут использоваться, по меньшей мере частично, для определения лечения, вводимого субъекту. В некоторых вариантах осуществления образец перед лечением собирают в день 1 первого курса лечения перед введением дозы. В некоторых вариантах осуществления образец перед лечением может быть собран за один месяц, три недели, две недели, одну неделю, шесть дней, пять дней, четыре дня, три дня, два дня или один день до введения первой дозы схемы лечения.

В вариантах осуществления, образцом является образец цельной крови, образец сыворотки или образец плазмы. В некоторых вариантах осуществления уровнем экспрессии является уровень мРНК или уровень белка. В конкретных вариантах осуществления уровнем экспрессии является уровень мРНК.

В некоторых вариантах осуществления образец может быть собран после того, как субъекту введена доза лечения. В конкретных вариантах осуществления образец собирают в день 1 первого курса лечения, перед введением дозы, через два часа после введения дозы, через шесть часов после введения дозы и через 24 часа после введения дозы. В другом конкретном варианте осуществления образец также собирают на 8 день первого курса лечения перед дозированием. В другом конкретном варианте осуществления образец также собирают в 1 день второго курса лечения перед дозированием. В другом конкретном варианте осуществления образец также собирают в день 1 любых дополнительных курсов лечения (например, третьего, *четвертого,* пятого и т.д.) перед дозированием. В другом конкретном варианте осуществления образец также собирают после завершения лечения.

Заранее определенный уровень маркера может быть измерен в образце, взятом у субъекта до лечения. В таких вариантах осуществления уровень маркера можно использовать для информирования о выборе схемы лечения и/или прогнозирования реакции на конкретное лечение. В некоторых вариантах осуществления уровень маркера можно использовать, по меньшей мере, частично, для определения схемы лечения для субъекта.

Соответственно, варианты осуществления настоящего раскрытия включают в себя способы выбора схемы лечения для субъекта, нуждающегося в этом, где способ включает: получение образца до лечения, полученного от субъекта; измерение маркера в образце; сравнение уровня маркера с пороговым уровнем маркера; и выбор схемы лечения на его основе.

Варианты осуществления настоящей заявки включают способы выбора схемы лечения для субъекта, нуждающегося в этом, где способы включают: получение образца до лечения, полученного от субъекта; измерение уровня маркера в образце; сравнение уровня маркера с пороговым уровнем маркера; и выбор схемы лечения, включающей эффективное количество соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли, на основе сравнения.

Дальнейшие варианты осуществления настоящей заявки включают способы

выбора схемы лечения для субъекта, нуждающегося в этом, где способы включают: получение образца перед лечением, полученного от субъекта; измерение уровня маркера в образце; и выбор схемы лечения, включающей эффективное количество соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли, если уровень маркера выше порогового уровня маркера.

Конкретные варианты осуществления раскрытия включают способы выбора схемы лечения для субъекта, нуждающегося в этом, где способ включает: получение образца до лечения, полученного от субъекта; измерение маркера, содержащего белки AXL или GAS6, в образце; сравнение уровней маркера с пороговым уровнем маркера; и выбор схемы лечения на основе сравнения. В некоторых вариантах осуществления схема лечения включает введение фармацевтической композиции, содержащей соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат).

Дополнительные варианты осуществления включают введение пациенту схемы лечения на основе заранее определенного уровня маркера. Соответственно, варианты осуществления настоящего раскрытия включают способы лечения рака у субъекта, где способ включает: введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, имеющему заранее определенный уровень маркера, который выше порогового уровня маркера.

Дополнительные варианты осуществления настоящего раскрытия включают способы лечения рака у субъекта, где способ, включает: введение эффективного количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, имеющему заранее определенный уровень маркера, содержащего белки AXL или GAS6, в которых заданный уровень выше порогового уровня маркера.

В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера связан с исходом заболевания. Кроме того, пороговый уровень маркера может быть определен из популяции, сгруппированной в соответствии с исходом заболевания. В некоторых вариантах осуществления популяцию лечили от рака. В некоторых вариантах осуществления рак представлял собой солидную опухоль. В вариантах осуществления изобретения рак представлял собой гематологический рак. В конкретных вариантах осуществления популяцию лечили от того же типа заболевания (например, от того же типа рака), что и субъекта.

В вариантах осуществления изобретения популяция имеет тот же тип заболевания (например, тот же тип рака), что и субъект. В конкретных вариантах осуществления популяция имеет тот же тип рака, что и субъект.

В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления у популяции наблюдалось прогрессирование заболевания после лечения соединением структуры (I) или его фармацевтически приемлемой солью. Прогрессирующее заболевание может относиться к заболеванию, тяжесть которого прогрессирует после начала лечения. Соответственно, в конкретных вариантах осуществления пороговый уровень маркера

связан с исходом прогрессирующего заболевания.

В некоторых вариантах осуществления у данной популяции не наблюдается прогрессирование (например, стабильное заболевание) после лечения соединением структуры (I) или его фармацевтически приемлемой солью. Отсутствие прогрессирования может относиться к заболеванию, состояние которого улучшилось (например, ремиссия), или заболеванию, которое не прогрессировало в течение курса лечения (например, опухоль существенно не выросла или уменьшилась в размере; и/или стадия рака не повысилась или понизилась). В конкретных вариантах осуществления отсутствие прогрессирования является стабильное заболевание. Стабильная болезнь может относиться к заболеванию, которое не улучшилось, но и не прогрессировало в течение курса лечения. Соответственно, в других вариантах осуществления пороговый уровень маркера связан с отсутствием прогрессирования.

В некоторых вариантах осуществления популяция является группой, состоящей из примерно 2, примерно 5, примерно 10, примерно 25, примерно 50, примерно 75 или примерно 100 субъектов. В некоторых вариантах осуществления популяция является группой, состоящей из примерно 200, примерно 300, примерно 500, примерно 1000, примерно 1500, примерно 2000, примерно 3000, примерно 5000 или примерно 10000 субъектов. В некоторых вариантах осуществления популяция является группой состоящей менее чем из примерно 10000 субъектов. В других вариантах осуществления популяция является группой, состоящей более чем из примерно 10000 субъектов.

В некоторых вариантах осуществления уровень маркера у субъекта выше порогового уровня маркера, связанного с прогрессирующим заболеванием. В вариантах осуществления изобретения уровень маркера у субъекта больше или равен пороговому уровню маркера, связанному с отсутствием прогрессирования.

В вариантах осуществления изобретения пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 35000 пикограммов на миллилитр (пг/мл). В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 36000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 37000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 37 500 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 38000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 38 500 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 39000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 39 500 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 40000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 40 500 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 41000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 41 500 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления

пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 42000 пг/мл. В конкретных вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 43000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 44000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 45000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 46000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка AXL составляет около 47000 пг/мл.

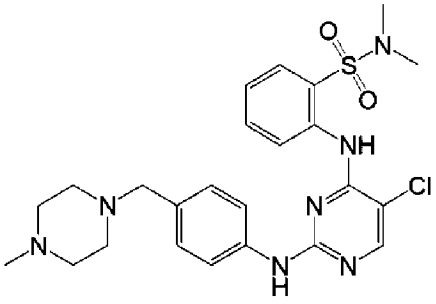
В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет около 8000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет около 9000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет около 10 000 пг/мл. В конкретных вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет примерно 10 500 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет примерно 11 000 пг/мл. В конкретных вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет около 11500 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет около 12000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет около 12500 пг/мл. В конкретных вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет около 13000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет около 13 500 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет около 14000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет около 14 500 пг/мл. В конкретных вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет около 15000 пг/мл. В конкретных вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет около 15 500 пг/мл. В конкретных вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет около 16000 пг/мл. В некоторых вариантах осуществления пороговый уровень маркера белка GAS6 составляет около 16 500 пг/мл.

Соответственно, варианты осуществления настоящего раскрытия включают в себя способы выбора схемы лечения рака у субъекта, где способ включает: получение образца до лечения, полученного от субъекта; измерение уровня маркера, содержащего AXL или GAS6, в образце; и выбор схемы лечения, включающей эффективное количество ингибитора AXL, если: (A) уровень белка AXL составляет, по меньшей мере, около 35000 пикограммов на миллилитр (пг/мл); (B) уровень белка GAS6 составляет, по меньшей мере, около 8000 пг/мл; или (C) оба.

Соответственно, варианты осуществления настоящего раскрытия включают в себя способы выбора схемы лечения рака у субъекта, где способ включает: получение образца до лечения, полученного от субъекта; измерение уровня маркера, содержащего AXL или GAS6, в образце; и выбор схемы лечения, включающей эффективное количество

ингибитора AXL, если: (A) уровень белка AXL составляет, по меньшей мере, около 45000 пикограммов на миллилитр (пг/мл); (B) уровень белка GAS6 составляет, по меньшей мере, около 13500 пг/мл; или (C) оба.

Конкретные варианты осуществления настоящего раскрытия включают способы выбора схемы лечения рака у субъекта, где способ включает: получение образца до лечения, полученного от субъекта; измерение уровня маркера, содержащего AXL или GAS6, в образце; и выбор схемы лечения, включающей эффективное количество соединения структуры (I):



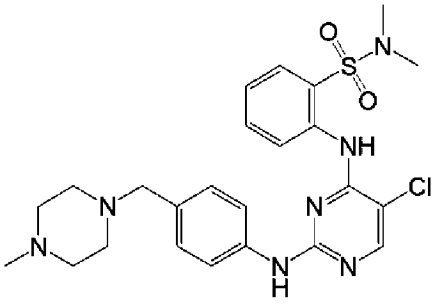
(I)

или его фармацевтически приемлемой соли, если: (A) белок AXL присутствует на уровне, по меньшей мере, примерно 45000 пг/мл; (B) белок GAS6 присутствует на уровне, по меньшей мере, около 13500 пг/мл; или (C) оба

В вариантах осуществления изобретения уровень маркера у субъекта определяется заранее.

Соответственно, варианты осуществления настоящего раскрытия включают способы лечения рака у субъекта, где способ включает: введение эффективного количества ингибитора AXL субъекту, имеющему заранее определенный уровень маркера, содержащего AXL или GAS6, при этом: (A) заданный уровень белка AXL составляет, по меньшей мере, 45000 пг/мл; (B) заданный уровень белка GAS6 составляет, по меньшей мере, 13500 пг/мл; или (C) оба.

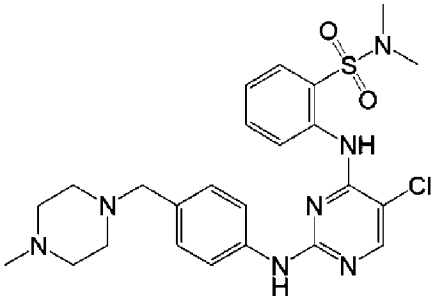
Дополнительные варианты осуществления настоящего раскрытия включают способы лечения рака у субъекта, где способ включает: введение эффективного количества соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, имеющему заданный уровень маркера, содержащего AXL или GAS6, при этом: (A) заданный уровень белка AXL составляет, по меньшей мере, 35000 пг/мл; (B) заданный уровень белка GAS6 составляет, по меньшей мере, 8000 пг/мл; или (C) оба.

В еще дополнительных вариантах осуществления настоящего раскрытия, включая способы лечения рака у субъекта, где способ включает: введение эффективного количества соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, имеющему заданный уровень маркера, содержащего AXL или GAS6, при этом:(A) заданный уровень белка AXL составляет, по меньшей мере, 45000 пг/мл; (B) заданный уровень белка GAS6 составляет, по меньшей мере, 13 500 пг/мл; или (C) оба.

3. Комбинированная терапия

В еще одном варианте осуществления ингибитор AXL киназы, такой как соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат), вводят нуждающемуся в этом субъекту в сочетании с антагонистом передачи сигналов рецептора В-клеток (например, ингибитором тирозинкиназы Брутона (BTK), таким как ибрутиниб). Соответственно, способы настоящего раскрытия включают способы лечения рака, включающие введение эффективного количества ингибитора AXL киназы и ингибитора тирозинкиназы Брутона (BTK) нуждающемуся в этом субъекту. Введение может осуществляться до, одновременно или после введения антагониста передачи сигналов рецептора В-клеток (например, ингибитора BTK).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор AXL киназы и ингибитор BTK вводят одновременно. В других вариантах осуществления ингибитор AXL киназы вводят после ингибитора BTK. В других вариантах осуществления ингибитор AXL киназы вводят перед ингибитором BTK.

В различных вариантах осуществления ингибитором BTK является ибрутиниб. В некоторых конкретных вариантах осуществления раком является хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (МЛЛ) или оба. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее получал схему лечения ХЛЛ, МЛЛ или обоих. В некоторых вариантах осуществления субъект был невосприимчивым после предыдущей схемы лечения, субъект имел рецидив ХЛЛ, МЛЛ или обоих этих состояний после ответа на предыдущую схему лечения, или субъект имел определяемое минимальное остаточное заболевание (МОЗ).

В некоторых вариантах осуществления субъект не чувствителен к лечению антагонистом передачи сигналов В-клеточного рецептора (например, ингибитором BTK), не подходит для лечения антагонистом передачи сигналов В-клеточного рецептора

(например, ингибитором BTK) или имеет рецидив после лечения антагонистом передачи сигналов рецептора В-клеток (например, ингибитором BTK). В одном конкретном варианте осуществления соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) вводят субъекту, нуждающемуся в этом, в сочетании с ингибитором BTK, таким как Ибрутиниб, для лечения лейкоза (например, ХЛЛ, МЛЛ или обоих).

В другом варианте осуществления ингибитор AXL киназы, такой как соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемая соль соединения структуры (I) (например, тартрат), вводят нуждающемуся в этом субъекту в сочетание с ингибитором Bcl-2, таким как венетоклакс. Введение может происходить до, одновременно или после введения ингибитора Bcl-2. В некоторых вариантах осуществления субъект не чувствителен к лечению ингибитором Bcl-2, не подходит для лечения ингибитором Bcl-2 или у него рецидив после лечения ингибитором Bcl-2. В одном конкретном варианте осуществления соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) вводят субъекту, нуждающемуся в этом, в сочетание с ингибитором Bcl-2, таким как венетоклакс, для лечения лейкоза (например, ХЛЛ, МЛЛ или обоих).

В еще одном варианте осуществления ингибитор AXL киназы, такой как соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемая соль соединения структуры (I) (например, тартрат), вводят нуждающемуся в этом субъекту в сочетании с ингибитором иммунных контрольных точек (например, ингибитором PD-1 (например, пембролизумабом или ниволумабом), ингибитором PD-L1 (например, атезолизумабом, авелумабом или дурвалумабом), ингибитором CTLA-4, ингибитором LAG-3 или ингибитором Tim-3. Соответственно, способы настоящего раскрытия включают способы лечения рака, включающие введение эффективного количества ингибитора AXL киназы и ингибитора иммунной контрольной точки нуждающемуся в этом субъекту. Введение ингибитора AXL киназы может происходить до, одновременно или после введения ингибитора иммунных контрольных точек (например, ингибитора PD-1 (такого как пембролизумаб или ниволумаб), ингибитора PD-L1 (такого как атезолизумаб, авелумаб или дурвалумаб), ингибитор CTLA-4, ингибитор LAG-3 или ингибитор Tim-3.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор AXL киназы и ингибитор иммунных контрольных точек вводят одновременно. В других вариантах осуществления ингибитор AXL киназы вводят после ингибитора иммунной контрольной точки. В других вариантах осуществления ингибитор AXL киназы вводят перед ингибитором иммунной контрольной точки.

В различных вариантах осуществления ингибитором иммунной контрольной точки является ингибитор PD-1. В конкретных вариантах осуществления ингибитором PD-1 является пембролизумаб, ниволумаб или их сочетание. В конкретных вариантах осуществления ингибитором PD-1 является пембролизумаб. В конкретных вариантах осуществления ингибитором PD-1 является ниволумаб. В некоторых других вариантах

осуществления ингибитором PD-1 является CBT-501 (CBT Pharmaceuticals), CBT-502 (CBT Pharmaceuticals), JS001 (Junshi Biosciences), IBI308 (Innovent Biologics), SHR-1210 (Hengrui Medicine), BGB-A317. (Beigene), BAT-I306 (Bio-Thera Solutions), GLS-010 (Gloria Pharmaceuticals; WuXi Biologics), AK103, AK104, AK105 (Akesio Biopharma; Hangzhou Hansi Biologics; Hanzhong Biologics), LZM009 (Livzon), HLX-10 (Henlius Biotech) или CS1003 (CStone Pharmaceuticals). В некоторых вариантах осуществления ингибитором PD-1 является моноклональное антитело (например, произведенное Genor Biopharma и находящееся в фазе I клинических испытаний на момент подачи данной заявки; произведенное Shenzhou Gongcheng, подавшей заявку на клинические испытания на момент подачи данной заявки; произведенное компанией Lunan Hope Pharmaceuticals, подавшей заявку на участие в клинических испытаниях на момент подачи данной заявки).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки является ингибитором PD-L1. В некоторых таких вариантах осуществления ингибитором PD-L1 является атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб или их сочетание. В конкретных вариантах осуществления ингибитором PD-L1 является атезолизумаб. В конкретных вариантах осуществления ингибитором PD-L1 является Авелумаб. В конкретных вариантах осуществления ингибитором PD-L1 является дурвалумаб. В некоторых вариантах осуществления ингибитором PD-L1 является KN035 (Alphamab; 3DMed), CS1001 (CStone Pharmaceuticals), SHR-1316 (Hengrui Medicine), TQB2450 (Chiatai Tianqing), STI-A1014 (Zhaoke Pharm; Lee's Pharm), BGB-A333 (Beigene), MSB2311 (Mabspace Biosciences) или HLX-20 (Henlius Biotech). В некоторых вариантах осуществления ингибитором PD-L1 является моноклональное антитело (например, произведенное Hisun Pharm, подавшей заявку на клинические испытания на момент подачи данной заявки).

В некоторых вариантах осуществления ингибитором иммунных контрольных точек является ингибитор CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления ингибитором CTLA-4 является ипилимумаб. В других вариантах осуществления ингибитором CTLA-4 является тремелимумаб.

В вариантах осуществления изобретения ингибитор AXL киназы, такой как соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемая соль соединения структуры (I) (например, тартрат), вводят нуждающемуся в этом субъекту в сочетание с ингибитором бромодомена, гистондеацетилазы (HDAC) или обоих.

Ингибитор бромодомена ингибирует, по меньшей мере, один белок бромодомена, такой как Brd2, Brd3, Brd4 и/или BrdT, например Brd4. В некоторых из этих вариантов осуществления ингибитором бромодомена является JQ-1 (Nature 2010 Dec 23; 468 (7327):1067-73), BI2536 (ACS Chem. Biol. 2014 May 16; 9 (5):1160-71; Boehringer Ingelheim), TG101209 (ACS Chem. Biol. 2014 May 16; 9 (5):1160-71), OTX015 (Mol. Cancer Ther. November 201312; C244; Oncoethix), IBET762 (J Med Chem. 2013 Oct 10; 56 (19):7498-500; GlaxoSmithKline), IBET151 (Bioorg. Med. Chem. Lett. 2012 Apr 15; 22 (8):2968-72; GlaxoSmithKline), PFI-1 (J. Med. Chem. 2012 Nov 26; 55 (22):9831-7; Cancer

Res. 2013 Jun 1; 73 (11):3336-46; Structural Genomics Consortium) CPI-0610 (Constellation Pharmaceuticals). В некоторых вариантах осуществления ингибиторjv бромодомена является TG101209, BI2536, OTX015, C244, IBET762, IBET151 или PFI-1.

Ингибитор HDAC ингибирует, по меньшей мере, один белок HDAC. Белки HDAC могут быть сгруппированы в классы на основе гомологии с дрожжевыми белками HDAC, где класс I состоит из HDAC1, HDAC2, HDAC3 и HDAC 8; класс IIa состоит из HDAC4, HDAC5, HDAC7 и HDAC 9; класс IIb состоит из HDAC6 и HDAC10; и класс IV состоит из HDAC11. В некоторых из этих вариантов осуществления ингибитором HDAC является трихостатин A, вориностат (Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998 Mar 17; 95 (6):3003-7), гивиностат, абексиностат (Mol. Cancer Ther. 2006 May; 5 (5):1309-17), белиностат (Mol. Cancer Ther. 2003 Aug; 2 (8):721-8), панобиностат (Clin. Cancer Res. 2006 Aug 1; 12 (15):4628-35), ресминостат (Clin. Cancer Res. 2013 Oct 1; 19 (19):5494-504), quisinostat (Clin. Cancer Res. 2013 Aug 1; 19 (15):4262-72), депсипептид (Blood. 2001 Nov 1; 98 (9):2865-8), энтиностат (Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999 Apr 13; 96 (8):4592-7), моцетиностат (Bioorg. Med. Chem. Lett. 2008 Feb 1; 18 (3):1067-71) или вальпроевая кислота (EMBO J. 2001 Dec 17; 20 (24):6969-78). Например, в некоторых вариантах осуществления ингибитором HDAC является панобиностат, вориностат, MS275, белиностат или LBH589. В некоторых вариантах осуществления ингибитором HDAC является панобиностат или SAHA.

В некоторых вариантах осуществления способы согласно настоящему раскрытию дополнительно включают введение пациенту радиационной терапии.

В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления способ предназначен для лечения рака печени, устойчивых к лечению видов рака (например, немелкоклеточного рака легкого), рака легких, рака пищевода, лимфомы Ходжкина, NK/T-клеточной лимфомы или меланомы. В некоторых конкретных вариантах осуществления способ предназначен для лечения плоскоклеточного рака пищевода, рака желудка, рака легких, носоглоточной карциномы, рака мочевого пузыря, саркомы мягких тканей, диффузной B-крупноклеточной лимфомы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, рака почки, уротелиальной карциномы, рака яичников, рака матки или рака поджелудочной железы.

В других вариантах осуществления представлены способы комбинированной терапии, в которых агент, о котором известно, что он модулирует другие пути, или другие компоненты того же пути, или даже перекрывающиеся наборы целевых ферментов, используется в сочетании с соединением структуры (I) или фармацевтически приемлемой солью соединения структуры (I) (например, тартратом). В одном аспекте такая терапия включает, но не ограничивается ими, сочетание соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата) с химиотерапевтическими агентами, терапевтическими антителами и радиационной терапией для обеспечения синергетического или аддитивного терапевтического эффекта.

Многие химиотерапевтические средства в настоящее время известны в данной

области и могут использоваться в сочетании с соединением структуры (I) или фармацевтически приемлемой солью соединения структуры (I) (например, тартратом). В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтический препарат выбирают из группы, состоящей из митотических ингибиторов, алкилирующих агентов, антиметаболитов, интеркалирующих антибиотиков, ингибиторов фактора роста, ингибиторов клеточного цикла, ферментов, ингибиторов топоизомеразы, модификаторов биологического ответа, анти-гормонов, ингибиторов ангиогенеза и антиандрогенов.

Не ограничивающие примеры терапевтических агентов, которые можно использовать в сочетании с соединением структуры (I) или фармацевтически приемлемой солью соединения структуры (I) (например, тартратом), включают химиотерапевтические агенты, цитотоксические агенты и непептидные низкомолекулярные агенты, такие как Gleevec® (мезилат иматиниба), Velcade® (бортезомиб), Казодекс (бикалутамид), Iressa® (гефитиниб) и адриамицин, а также множество химиотерапевтических агентов. Неограничивающие примеры химиотерапевтических агентов включают алкилирующие агенты, такие как тиотепа и циклофосфамид (CYTOXAN®); алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбохон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая альтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентиофосфорамид и триметилоломеламин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, холофосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, гидрохлорид оксида мехлорэтамина, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урациловый иприт; нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин, ранимустин; антибиотики, такие как аклациномизины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, калихеамицин, карабицин, карминомицин, карзинофилин, Casodex®, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин, эпирубиуин, эзорубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфиромицин, пуромицин, келамицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенитинимекс, зиностицин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин, андрогены, такие как калустерон, дромостанолона пропионат, эпитиостанол, мепитиостонан, тестолактон; средства, угнетающие функции надпочечников, такие как аминоглутетимид, митотан, трилостан; восполнитель фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота; ацеглатон; гликозид альдофосфамида; аминолевулиновая кислота; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; эльфомитин; эллиптиния ацетат; этоглюцид; нитрат галлия; гидроксимочевина; лентинан; лонидамин; митогуазон;

митоксантрон; мопидамол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; подофиллиновая кислота; 2-этилгидразид; прокарбазин; PSK.RTM.; разоксан; сизофиран; спирогерманий; тенуазоновая кислота; триазиквон; 2,2,2”-трихлортриэтиламин; уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид («Ara-C»); циклофосфамид; тиотепа; таксаны, например паклитаксел (TAXOL™, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princetion, N.J.) и доцетаксел (TAXOTERE™, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France); ретиноевая кислота; эсперамицины; капецитабин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных.

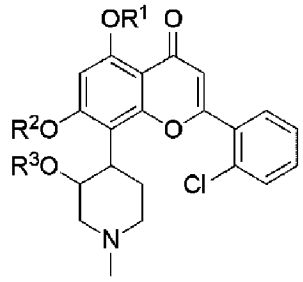
В качестве подходящих химиотерапевтических клеточных кондиционеров также включены анти-гормональные агенты, которые регулируют или ингибируют действие гормонов на опухоли, такие как анти-эстрогены, включая, например, тамоксифен (Nolvadex™), ралоксифен, ароматазу, ингибирующую 4(5)-имидазолы, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY 117018, онапристон и торемифен (Фарестон); и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гозерелин; хлорамбуцил; гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин; платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митомицин С; митоксантрон; винкристин; винорелбин; навелбин; новантрон; тенипозид; дауномицин; аминоптерин; кселода; ибандронат; камптотецин-11 (CPT-11); ингибитор топоизомеразы RFS 2000; дифторметилорнитин (ДМФО). При желании соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемая соль соединения структуры (I) (например, тартрат) или его фармацевтическая композиция могут использоваться в сочетании с обычно назначаемыми противораковыми лекарственными средствами, такими как Herceptin®, Avastin®, Erbitux®, Rituxan®, Taxol®, Arimidex®, Taxotere®, ABVD, Авицин, Абаговомб, Акридин карбоксамид, Адекатумумаб, 17-N-аллиламино-17-деметоксигелданамицин, Алфарадин, Алвоцидопидиб, 3-аминопиридин-2-карбоксальдегид тиосемикарбазон, Амонафид, Антрацендион, анти-CD22 иммунотоксины, противоопухолевые препараты, антионкогенные травы, Апазиквон, Атипримод, Азатиоприн, Белотекан, Бендамустин, BIBW 2992, Бирикодар, Бросталлицин, Бриостатин, Бутионин сульфоксимин, CVB (химиотерапия), Каликулин, неспецифические противоопухолевые агенты клеточного цикла, дихлоруксусная кислота, Дискодермолид, Эльзамитруцин, Эноцитабин, Эпотилон, Эрибулин, Эверолимус, Экзатекан, Экзисулинд, Ферругинол, Фородезин, Фосфестрол, режим химиотерапии ICE, IT-101, Имексон, Имиквимод, Индолокарбазол, Ирофульвен, Ланиквидар, Ларотаксел, Леналидомид, Лукантон, Луртотекан, Мафосфамид, Митозоломид, Нафоксидин, Недаплатин, Олапариб, Ортатаксел, PAC-1, Поупоу, Пиксантрон, ингибитор протеасомы, Ребеккамицин, Резиквимод, Рубитекан, SN-38 , Салиноспорамид A, Сапацитабин, Стэнфорд V, Свайнсонин, Талапорфин, Тариквидар, Тегафур урацил, Темодар, Тезетаксел, Триплатин тетранитрат, Трис(2-хлорэтил)амин, Троксацитабин, Урамустин, Вадимезан, Винфлумин, ZD-6126 или Зосиквидар.

В одном варианте осуществления соединение структуры (I) вводят субъекту, нуждающемуся в этом, в сочетании с ингибитором CDK9, таким как альвоцидиб. В родственном варианте осуществления, фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) вводят субъекту, нуждающемуся в этом, в сочетании с ингибитором CDK9, таким как альвоцидиб. Введение может происходить до, одновременно или после введения ингибитора CDK9. В одном конкретном варианте осуществления соединение структуры (I) вводят субъекту, нуждающемуся в этом, в сочетании с ингибитором CDK9, таким как альвоцидиб, для лечения рака поджелудочной железы. В родственном конкретном варианте осуществления фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) вводят субъекту, нуждающемуся в этом, в сочетание с ингибитором CDK9, таким как альвоцидиб, для лечения рака поджелудочной железы. В некоторых из вышеизложенных вариантов осуществления солью является тартрат. В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления ингибитором CDK9 является альвоцидиб. В некоторых вариантах осуществления солью является тартрат, а ингибитором CDK9 является альвоцидиб.

В некоторых других вариантах осуществления представлен способ лечения рака, включающий введение эффективного количества ингибитора AXL киназы и ингибитора CDK нуждающемуся в этом субъекту. Ингибитор AXL киназы и ингибитор CDK могут быть любым из ингибиторов AXL киназы или CDK, известных в данной области.

В некоторых вариантах осуществления ингибиторм AXL киназы является соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль. Например, в некоторых конкретных вариантах осуществления ингибитором AXL киназы является тартрат соединения структуры (I), как раскрыто в данном документе.

В вариантах осуществления изобретения ингибитором CDK является ингибитор CDK2, CDK4, CDK6, CDK7, CDK8, CDK9, CDK10 и/или CDK11. В некоторых вариантах осуществления ингибитором CDK является ингибитор CDK7, CDK9 или оба. В некоторых вариантах осуществления ингибитором CDK является динациклиб (ACS Med. Chem. Lett. 2010 May 17; 1 (5):204-8; Mol. Cancer Ther. 2010 Aug 9 (8):2344-53; Merck, Sharp and Dohme), AT7519 (J. Med. Chem. 2008 Aug 8; 51 (16):4986-99; Astex Pharmaceutical) или палбоциклиб (J. Med. Chem. 2005 Apr 7; 48 (7):2388-406; Pfizer). В некоторых вариантах осуществления ингибитором CDK является ингибитор CDK9, такой как альвоцидиб. Альвоцидиб может вводиться в виде свободных оснований, в виде фармацевтически приемлемой соли или в виде пролекарства. В некоторых вариантах осуществления ингибитором CDK9 является альвоцидиб. в других вариантах осуществления ингибитором CDK9 является фармацевтически приемлемая соль альвоцидиба. В других вариантах осуществления ингибиторм CDK9 является пролекарство альвоцидиба. Пролекарства альвоцидиба включают пролекарства, раскрытые в WO 2016/187316, полное описание которой включено в настоящее описание в качестве ссылки во всей его полноте. Например, в некоторых вариантах осуществления пролекарство альвоцидиба имеет следующую структуру (II):

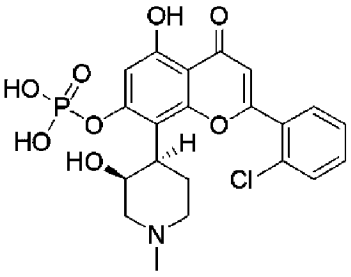


(II)

или его стереоизомер, таутомер или фармацевтически приемлемая соль, где:

один из R^1, R^2 или R^3 является $-P(=O)(OH)_2$, а каждый из двух других из R^1, R^2 и R^3 является H.

В некоторых конкретных вариантах осуществления пролекарство альвоцидиба имеет следующую структуру:



(II')

или его фармацевтически приемлемая соль или цвиттерионная форма.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор AXL киназы и ингибитор CDK вводят одновременно. В других вариантах осуществления ингибитор AXL киназы вводят после ингибитора CDK. В других вариантах осуществления ингибитор AXL киназы вводят перед ингибитором CDK.

Различные виды рака можно лечить с помощью сочетания ингибитора AXL киназы и ингибитора CDK. В некоторых вариантах осуществления раком является гемологический рак или солидная опухоль, например, любой из гематологических видов рака или солидных опухолей, описанных здесь или известных в данной области.

В некоторых конкретных вариантах осуществления раком является гематологический рак, такой как множественная миелома, миелодиспластический синдром (МДС), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый лимфоцитарный лейкоз, хронический лимфогенный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), мантийно-клеточная лимфома, диффузная В-крупноклеточная лимфома, фолликулярная лимфома или неходжкинская лимфома. В некоторых конкретных вариантах осуществления гематологическим раком является ХЛЛ, МЛЛ или оба. В некоторых конкретных вариантах осуществления гематологическим раком является ХЛЛ. В некоторых конкретных вариантах осуществления гематологическим раком является МЛЛ.

В некоторых других конкретных вариантах осуществления раком, который лечат

сочетанием ингибитора AXL киназы и ингибитора CDK, является солидная опухоль, такая как рак поджелудочной железы, толстой кишки или легких.

Варианты осуществления дополнительно относятся к способу введения соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата) субъекту, нуждающемуся в этом, в сочетании с ингибитором BTK (например, ибрутинибом) или ингибитором CDK9 (например, альвоцидибом), представленным в настоящем документе, в сочетании с радиационной терапией для ингибирования аномального роста клеток или лечения гиперпролиферативного нарушения у млекопитающего. Способы проведения радиационной терапии известны в данной области, и эти способы можно использовать в описанной здесь комбинированной терапии. Введение фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I), например тартрата соединения структуры (I), в этой комбинированной терапии может быть определено, как описано в данном документе.

В одном варианте осуществления соединение структуры (I) вводят субъекту, нуждающемуся в этом, в сочетание с ингибитором ATR, таким как AZD6738 или VX-970. В родственном варианте осуществления, фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) вводят субъекту, нуждающемуся в этом, в сочетание с ингибитором ATR, таким как AZD6738 или VX-970. Введение может происходить до, одновременно или после введения ингибитора ATR. В одном конкретном варианте осуществления соединение структуры (I) вводят нуждающемуся в этом субъекту в сочетание с ингибитором ATR, таким как AZD6738 или VX-970, для лечения немелкоклеточного рака легкого. В родственном конкретном варианте осуществления фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) вводят субъекту, нуждающемуся в этом, в сочетании с ингибитором ATR, таким как AZD6738 или VX-970, для лечения немелкоклеточного рака легкого. В некоторых из вышеизложенных вариантов осуществления солью является тартрат. В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления ингибитором ATR является AZD6738. В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления ингибитором ATR является VX-970. В некоторых вариантах осуществления солью является тартрат, а ингибитором ATR является AZD6738. В некоторых вариантах осуществления солью является тартрат, а ингибитором ATR является VX-970. В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления ингибитором ATR является сочетание AZD6738 и VX-970.

В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления немелкоклеточный рак легкого включает аденокарциному легкого TCGA, одну или несколько опухолей LUAD, плоскоклеточную карциному легкого TCGA, одну или несколько опухолей LUSC, одну или несколько опухолей MDACC PROSPECT, одну или несколько опухолей MDACC BATTLE1, одну или несколько опухолей BATTLE2 или их сочетание. В некоторых вариантах осуществления немелкоклеточный рак легкого включает опухоли TCGA LUAD, например опухоли, обогащенные транслокациями ALK. В некоторых вариантах осуществления немелкоклеточный рак легкого включает опухоли TCGA LUAD, например

опухоли, содержащие одну или несколько мутаций EGFR.

В одном варианте осуществления соединение структуры (I) вводят субъекту, который в этом нуждается, тем самым повышая чувствительность субъекта к введению ингибитора ATR, такого как AZD6738 или VX-970. В родственном варианте осуществления фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) вводят субъекту, который в этом нуждается, тем самым повышая чувствительность субъекта к введению ингибитора ATR, такого как AZD6738 или VX-970. В одном конкретном варианте осуществления соединение структуры (I) вводят субъекту, который в этом нуждается, тем самым повышая чувствительность субъекта к введению ингибитора ATR, такого как AZD6738 или VX-970, для лечения немелкоклеточного рака легких. В родственном конкретном варианте осуществления фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) вводят субъекту, который в этом нуждается, тем самым повышая чувствительность субъекта к введению ингибитора ATR, такого как AZD6738 или VX- 970 для лечения немелкоклеточного рака легкого. В некоторых из вышеизложенных вариантов осуществления солью является тартрат. В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления ингибитором ATR является AZD6738. В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления ингибитором ATR является VX-970. В некоторых вариантах осуществления солью является тартрат, а ингибитором ATR является AZD6738. В некоторых вариантах осуществления солью является тартрат, а ингибитором ATR является VX-970. В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления ингибитором ATR является сочетание AZD6738 и VX-970.

Радиационная терапия может применяться в сочетании с соединением структуры (I) или фармацевтически приемлемой солью соединения структуры (I) (например, тартратом) в некоторых вариантах осуществления. Примеры радиационной терапии включают внешнюю радиационную терапию, внутреннюю радиационную терапию, облучение имплантата, стереотаксическую радиохирургию, системную радиационную терапию, радиационную терапию и постоянную или временную внутритканевую брахитерапию. Используемый здесь термин «брахитерапия» относится к радиационной терапии, проводимой с помощью пространственно ограниченного радиоактивного материала, введенного в тело в месте опухоли или другого пролиферативного заболевания ткани или рядом с ним. Термин предназначен, без ограничения, для включения воздействия радиоактивных изотопов (например, At^{211}, I^{131}, I^{125}, Y^{90}, Re^{186}, Re^{188}, Sm^{153}, Bi^{212}, P^{32} и радиоактивных изотопов Lu). Подходящие источники излучения для использования в качестве кондиционера клеток по настоящему изобретению включают как твердые вещества, так и жидкости. В качестве неограничивающего примера источником излучения может быть радионуклид, такой как I^{125}, I^{131}, Yb^{169}, Ir^{192} в качестве твердого источника, I^{125} в качестве твердого источника или другие радионуклиды, которые испускают фотоны, бета-частицы, гамма-излучение или другие лечебные лучи. Радиоактивный материал также может быть жидкостью, полученной из любого раствора

радионуклида(ов), например, раствора I^{125} или I^{131}, или радиоактивная жидкость может быть получена с использованием суспензии подходящей жидкости, содержащей мелкие частицы твердых радионуклидов, таких как Au^{198}, Y^{90}. Более того, радионуклиды могут быть выполнены в виде геля или радиоактивных микросфер.

Не ограничиваясь какой-либо теорией, соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемая соль соединения структуры (I) (например, тартрат) может сделать аномальные клетки более чувствительными к лечению радиацией в целях уничтожения и/или лечения или ингибирования роста таких клеток. Соответственно, некоторые варианты осуществления включают способ сенсибилизации аномальных клеток млекопитающего к лечению радиацией, который включает введение млекопитающему некоторого количества соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата), количество которой эффективно повышает чувствительность аномальных клеток к лечению радиацией. Количество соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемой соли соединения структуры (I) (например, тартрата) в этом способе может быть определено в соответствии со способами определения эффективных количеств таких соединений и солей, описанными здесь.

Соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) также можно использовать в сочетании с некоторым количеством одного или нескольких веществ, выбранных из агентов против ангиогенеза, ингибиторов передачи сигнала, антипролиферативных агентов, ингибиторов гликолиза или ингибиторов аутофагии.

Агенты против ангиогенеза включают, например, ингибиторы MMP-2 (матричной металлопротеиназы 2), рапамицин, темсиролимус (CCI-779), эверолимус (RAD001), сорафениб, сунитиниб и бевацизумаб. Примеры полезных ингибиторов COX-II включают CELEBREX™ (алекоксиб), валдекоксиб и рофекоксиб. Примеры полезных ингибиторов матричной металлопротеиназы описаны в WO 96/33172 (опубликовано 24 октября 1996 г.), WO 96/27583 (опубликовано 7 марта 1996 г.), Европейской патентной заявке №. 97304971.1 (подана 8 июля 1997 г.), заявке на европейский патент №. 99308617.2 (подана 29 октября 1999 г.), WO 98/07697 (опубликовано 26 февраля 1998 г.), WO 98/03516 (опубликовано 29 января 1998 г.), WO 98/34918 (опубликовано 13 августа 1998 г.), WO 98/34915 (опубликовано 13 августа 1998 г.), WO 98/33768 (опубликовано 6 августа 1998 г.), WO 98/30566 (опубликовано 16 июля 1998 г.), публикации европейского патента 606,046 (опубликовано 13 июля 1994 г.), публикации европейского патента 931,788 (опубликовано 28 июля 1999 г.), WO 90/05719 (опубликовано 31 мая 1990 г.), WO 99/52910 (опубликовано 21 октября 1999 г.), WO 99/52889 (опубликовано 21 октября 1999 г.), WO 99/29667 (опубликовано в июне 17,1999), международной заявке PCT №. PCT/IB98/01113 (подана 21 июля 1998 г.), заявке на европейский патент №. 99302232.1 (подана 25 марта 1999 г.), заявке на патент Великобритании №. 9912961.1 (подана 3 июня 1999 г.), предварительной заявке на патент США №. 60/148,464 (подана 12 августа 1999

г.), патенте США 5,863,949 (выдан 26 января 1999 г.), патенте США 5,861,510 (выдан 19 января 1999 г.) и европейской патентной публикации 780,386 (опубликовано 25 июня 1997 г.), все из которых полностью включены в настоящий документ в качестве ссылки. Варианты осуществления ингибиторов ММР-2 и ММР-9 включают ингибиторы, которые обладают небольшой активностью или не обладают ингибирующей активностью к ММР-1. Другие варианты осуществления включают те, которые селективно ингибируют ММР-2 и/или АМР-9 по сравнению с другими матричными металлопротеиназами (т.е. МАР-1, ММР-3, ММР-4, ММР-5, ММР-6, ММР-7, ММП-8, ММП-10, ММП-11, ММП-12 и ММП-13). Некоторые конкретные примеры ингибиторов ММП, применимых в некоторых вариантах осуществления, включают AG-3340, RO 32-3555 и RS 13-0830.

Ингибиторы аутофагии включают, но не ограничиваются ими, хлорохин, 3-метиладенин, гидроксихлорохин (Plaquenil™), бафиломицин А1, 5-амино-4-имидазол карбоксамид рибозид (AICAR), окадаиновую кислоту, токсины водорослей, подавляющие аутофагию, которые ингибируют протеинфосфатазы типа 2А или типа 1, аналоги цАМФ и препараты, которые повышают уровни цАМФ, такие как аденозин, LY204002, N6-меркаптопурин рибозид и винбластин. Кроме того, также может использоваться антисмысловая или миРНК, которая ингибирует экспрессию белков, включая, но не ограничиваясь ими, ATG5 (который участвует в аутофагии).

В других вариантах осуществления агенты, применяемые в способах комбинированной терапии с соединением структуры (I) или фармацевтически приемлемой солью соединения структуры (I) (например, тартратом), включают, но не ограничиваются ими: Эрлотиниб, Афатиниб, Иресса, GDC0941, MLN1117, BYL719 (Алпелисиб), BKM120 (Бупарлисиб), CYT387, GLPG0634, Барицитиниб, Лестауртиниб, Момелотиниб, Пакритиниб, Руксиботиниб, TG101348, Кризотиниб, тивантиниб, AMG337, кабозантиниб, форетиниб, онартузумаб, NVP-AEW541, дазатиниб, понатиниб, саракатиниб, босутиниб, траметиниб, селуметиниб, кобиметиниб, PD0325901, RO5126766, акситиниб, бевацизумаб, бостутиниб, цетуксимаб, кризотиниб, фостаматиниб, Гефитиниб, Иматиниб, Лапатиниб, Ленватиниб, Ибрутиниб, Нилотиниб, Панитумумвб, Пазопаниб, Пегаптаниб, Ранибизумаб, Руксолитиниб, Сорафениб, Сунитиниб, SU6656, Трастузумаб, Тофацитиниб, Вандетаниб, Вемурафениб, Иринотекан, Таксол, Доцетаксел, Рапамицин или MLN0128.

В вариантах осуществления изобретения соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) вводят в сочетании с ингибитором тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). Примеры ингибиторов EGFR включают эрлотиниб, осимертиниб, цетуксимаб, гефитиниб, нецитумумаб, лапатиниб, нератиниб, панитумумаб, вандетаниб и нецитумумаб. Сочетание соединения структуры (I) и ингибитора EGFR может быть полезно, например, при лечении раков, связанных с нарушением регуляции EGFR, таких как немелкоклеточный рак легких (НМКРЛ), рак поджелудочной железы, груди рак и рак толстой кишки. EGFR может быть разрегулирован, например, из-за активирующих

мутаций в экзонах 18, 19, 20 или 21. Как показано в примерах 9, 10 и 19, сочетание соединения структуры (I) и ингибиторов EGFR демонстрирует синергию в доклинических моделях рака с мутацией EGFR. В конкретных вариантах осуществления ингибитором EGFR является эрлотиниб или осимертиниб. В конкретных вариантах осуществления сочетание соединения структуры (I) и ингибитора EGFR используется для лечения НМКРЛ с мутацией EGFR. В конкретных вариантах осуществления сочетание соединения структуры (I) и ингибитора EGFR используется для лечения рака, устойчивого к ингибитору EGFR, и соединение структуры (I) сенсибилизирует рак к ингибитору EGFR.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) вводят в сочетание с Эрлотинибом. В некоторых вариантах осуществления такое сочетание используется для лечения рака поджелудочной железы. В других вариантах осуществления такое сочетание используется для лечения рака легких. В дополнительных вариантах осуществления раком легкого является немелкоклеточный рак легкого.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартратную соль) вводят в сочетание с осмертинибом. В некоторых вариантах осуществления такое сочетание используют для лечения рака легких. В дополнительных вариантах осуществления рак легкого имеет мутацию EGFR.

При использовании в комбинированной терапии соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) вводят со вторым агентом одновременно или по отдельности. Такое комбинированное введение может включать одновременное введение двух агентов в одной и той же дозированной форме, одновременное введение в отдельных дозированных формах и раздельное введение. То есть соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемая соль соединения структуры (I) (например, тартрат) и любой из агентов, описанных выше (например, ибрутиниб или альвоцидиб), могут быть составлены вместе в одной и той же дозированной форме и вводиться одновременно. Альтернативно, одновременно можно вводить соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) и любой из агентов, описанных выше (например, ибрутиниб или альвоцидиб), при этом оба агента присутствуют в отдельных составах. В другом альтернативном варианте соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) можно вводить сразу после любого из агентов, описанных выше, или наоборот. В некоторых вариантах осуществления отдельного протокола введения соединение структуры (I) или фармацевтически приемлемую соль соединения структуры (I) (например, тартрат) и любой из описанных выше агентов вводят с интервалом в несколько минут или с разницей в несколько часов, или с разницей в несколько дней.

Соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат), используемые в вариантах осуществления настоящего изобретения, также можно

вводить одновременно с, до или после введения одного или нескольких других терапевтических агентов. Например, можно вводить соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат), и через достаточный период времени вводить второй терапевтический агент. В таких вариантах осуществления период времени между введением соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) и второго терапевтического агента может упоминаться как «перерыв в лечении». В некоторых вариантах осуществления такой перерыв в лечении составляет от примерно 12 часов до примерно 48 часов. В некоторых вариантах осуществления такой перерыв в лечении составляет от примерно 18 до примерно 40 часов. В некоторых вариантах осуществления такой перерыв в лечении составляет от примерно 18 до примерно 36 часов. В некоторых вариантах осуществления такой перерыв в лечении составляет от примерно 24 до примерно 48 часов. Специалист в данной области может составить соответствующий график дозирования на основе общепринятых методик и знаний.

В вариантах осуществления изобретения соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемую соль (например, тартрат) и второй терапевтический агент вводят последовательно. В некоторых вариантах осуществления существует перерыв в лечении между введением соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) и введением второго терапевтического агента. В более конкретных вариантах осуществления перерыв в лечении составляет, по меньшей мере, от примерно 24 до примерно 48 часов. В конкретных вариантах осуществления перерыв в лечении составляет около 48 часов. В некоторых вариантах осуществления перерыв в лечении составляет, по меньшей мере, около 120 часов.

4. Лечение рака яичников

В вариантах осуществления, способы по раскрытию полезны для лечения рака у субъекта. Такие способы лечения рака (например, (i) остановка развития рака; (ii) вызов регресса рака; или (iii) облегчение симптомов, возникающих в результате рака) включают введение тартрата соединения структуры (I), как описано в данном документе. В вариантах осуществления изобретения раком является светлоклеточная карцинома яичника.

Кроме того, в различных вариантах осуществления способы по раскрытию полезны для лечения асцита, вызванного раком, у субъекта. Соответственно, варианты осуществления способов лечения, раскрытых в настоящем документе, включают лечение асцита у субъекта, нуждающегося в этом, где способ включает: введение соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата), где асцит вызван раком. В некоторых вариантах осуществления раком является рак яичников.

В вариантах осуществления изобретения рак чувствителен к лечению. В вариантах осуществления изобретения рак частично чувствителен к лечению. В некоторых вариантах осуществления рак не восприимчив к лечению. В некоторых вариантах осуществления рак является рецидивирующим. В вариантах осуществления изобретения

рак устойчив к лечению. В вариантах осуществления изобретения раком является устойчивый к лечению рак яичников.

В некоторых вариантах осуществления устойчивым к лечению раком яичников является рецидивирующий устойчивый к лечению рак яичников. В некоторых вариантах осуществления раком яичников является устойчивый к лекарственным средствам рак яичников. В вариантах осуществления изобретения рак яичников устойчив к лекарственному средству, выбранному из группы, состоящей из гормонального терапевтического агента, химиотерапевтического агента, иммунотерапевтического агента или фактора роста клеток и агента, ингибирующего действие его рецептора.

В различных вариантах осуществления лекарственным средством является гормональный терапевтическиый агент. Примеры гормональных терапевтических агентов включают фосфестрол, диэтилстильбестрол, хлортрианизен, медроксипрогестерона ацетат, мегестрола ацетат, хлормадинона ацетат, ципротерона ацетат, даназол, диеногест, асоприснил, аллилестренол, гестринон, номемегестерол, таденан, мепартрицин, ралоксифен, ормелоксифен, левормелоксифен, антиэстроген (например, цитрат тамоксифена, цитрат торемифена и подобные), состав для пилюли, мепитиостан, тестололактон, аминоглутетимид, производные LH-RH (агонист LH-RH (например, ацетат гозерелина, бусерелин, лейпрорелин и подобные), антагонист LH-RH), дролоксифен, эпитиостанол, этинил эстрадиол сульфонат, ингибиторы ароматазы (например, фадрозола гидрохлорид, анастрозол, летрозол, экземестан, ворозол, форместан и подобные), антиандрогены (например, флутамид, бикалутамид, нилутамид и подобные), агенты на основе гормона коры надпочечников (например, дексаметазон, преднизолон, бетаметазон, триамцинолон и пободные), ингибиторы синтеза андрогена (например, абиратерон и подобные), ретиноид и агент, замедляющий метаболизм ретиноида (например, лиарозол и подобные) и подобные.

В различных вариантах осуществления лекарственным средством является химиотерапевтическое средство. В различных вариантах осуществления химиотерапевтическим агентом является алкилирующий агент, антиметаболит, противораковый антибиотик или противораковый агент растительного происхождения. В конкретных вариантах осуществления химиотерапевтическим агентом является алкилирующий агент. Примеры алкилирующих агентов включают азотистый иприт, гидрохлорид N-оксида азотистого иприта, хлорамбуцил, циклофосфамид, ифосфамид, тиотепа, карбохон, импросульфан тозилат, бусульфан, нимустина гидрохлорид, митобронитол, мелфалан, дакарбазин, ранимустин, фосфат эстрамустина натрия, триэтиленмеламин, кармустин, ломустин, стрептозоцин, пипоброман, этоглюцид, карбоплатин, цисплатин, мибоплатин, недаплатин, оксалиплатин, альтретамин, амбамустин, диброспидия гидрохлорид, фотемустин, преднимустин, пумитепа, рибомустин, темозоломид, треосульфан, трофосфамид, зиностатин стимуламер, адозелесин, цистемустин, бизелесин и его DDS составы, и подобные. В конкретных вариантах осуществления алкилирующий агент выбирают из группы, состоящей из

карбоплатина, цисплатина, мибоплатина, недаплатина и оксалиплатина. В некоторых вариантах осуществления алкилирующим агентом является цисплатин.

В вариантах осуществления изобретения химиотерапевтическим агентом является антиметаболит. Примеры антиметаболитов включают меркаптопурин, рибозид 6-меркаптопурина, тиоинозин, метотрексат, пеметрексед, эноцитабин, цитарабин, окфосфат цитарабина, гидрохлорид анцитабина, агент на основе 5-FU (например, фторурацил, тегафур, UFT, доксифлуридин, кармофур, галоцитабин, эмитефур, капецитабин и подобные), аминоптерин, нелзарабин, лейковорин кальция, таблоид, бутоцин, фолинат кальция, левофолинат кальция, кладрибин, эмитефур, флударабин, гемцитабин, гидроксикарбамид, пентостатин, пиритреким, идоксуридин, митогуазон, тиазофкрин, амбамустин, бендамустин и их DDS составы, и подобные.

В вариантах осуществления изобретения химиотерапевтическим агентом является противораковый антибиотик. Примеры противораковых антибиотиков включают актиномицин D, актиномицин C, митомицин C, хромомицин A3, блеомицина гидрохлорид, блеомицина сульфат, пепломицина сульфат, даунорубицина гидрохлорид, доксорубицина гидрохлорид, акларубицина гидрохлорид, пирарубицина гидрохлорид, эпирубицина гидрохлорид, неокарциностатин, митрамицин, саркомицин, карцинофилин, митотан, зорубицина гидрохлорид, митоксантрона гидрохлорид, идарубицина гидрохлорид и их DDS составы и подобные.

В вариантах осуществления изобретения химиотерапевтическим агентом является противораковый агент растительного происхождения. Примеры противораковых средств растительного происхождения включают этопозид, этопозида фосфат, винбластина сульфат, винкристина сульфат, виндезина сульфат, тенипозид, паклитаксел, доцетаксел, DJ-927, винорелбин, иринотекан, топотекан и их DDS составы и подобные. Химиотерапевтические агенты также включают собузоксан.

В различных вариантах осуществления лекарственным средством является иммунотерапевтическое средство. Примеры иммунотерапевтических средств включают пицибанил, крестин, шизофиллан, лентинан, убенимекс, интерферон, интерлейкин, макрофаговый колониестимулирующий фактор, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, эритропоэтин, лимфотоксин, вакцина БЦЖ, Corynebacterium parvum, левамизол, полисахарид K, прокодазол, анти-CTLA4 антитело, PD-1 антитело и агонист Toll-подобных рецепторов (например, агонист TLR7, агонист TLR8, агонист TLR9 и подобные).

В различных вариантах осуществления лекарственным средством является фактор роста клеток. Фактором роста клеток может быть любое вещество, при условии, что оно способствует росту клеток. Обычно он включает фактор, представляющий собой пептид с молекулярной массой 20000 или менее, и проявляющий эффект при низкой концентрации за счет связывания с рецептором. В частности, эпидермальный фактор роста (EGF) или вещества, имеющие по существу аналогичную активность (например, TGF-альфа и подобные), инсулин или вещества, имеющие по существу аналогичную активность

(например, инсулин, инсулиноподобный фактор роста (IGF)-1, IGF-2 и подобные), фактор роста фибробластов (FGF) или вещества, имеющие по существу аналогичную активность (например, кислотный FGF, основной FGF, фактор роста кератиноцитов (KGK), FGF-10 и подобные) и другие факторы роста клеток (например, колониестимулирующий фактор (CSF), эритропоэтин (EPO), интерлейкин-2 (IL-2), фактор роста нервов (NGF), фактор роста тромбоцитов (PDGF), трансформирующий фактор роста бета (TGF-beta), фактор роста гепатоцитов (HGF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), херегулин, ангиопоэтин и подобные).

В различных вариантах осуществления лечимого субъекта ранее лечили препаратом, к которому рак яичников устойчив. В вариантах осуществления изобретения рак яичников невосприимчив к лечению.

В вариантах осуществления изобретения лечимого субъекта ранее лечили, например, терапией первой линии. В некоторых вариантах осуществления рак субъекта устойчив к терапии первой линии (например, хирургической резекции, терапии на основе платины и подобного). В некоторых вариантах осуществления изобретения терапией первой линии является терапия на основе платины. В некоторых вариантах осуществления терапия на основе платины включает введение субъекту цисплатина. В различных вариантах осуществления рак невосприимчив к терапии первой линии.

В различных вариантах осуществления эффективные количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) могут уменьшить количество опухолевых клеток, уменьшить количество метастазов, уменьшить объем опухоли, вызвать апоптоз раковых клеток, вызвать гибель раковых клеток, вызвать радиочувствительность раковых клеток, подавить ангиогенез около раковых клеток, подавить пролиферацию раковых клеток, подавить рост опухоли, предотвратить метастазирование, уменьшить количество метастазов, увеличить продолжительность жизни, продлить жизнь субъекта, сократить боль, связанную с раком, и/или уменьшить случаи рецидива или повторного возникновения рака после лечения.

В вариантах осуществления изобретения эффективные количества соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) могут замедлять или обращать вспять прибавку массы, уменьшать вздутие живота, уменьшать затрудненное дыхание, устранять необходимость или снижать частоту для снижения объема асцита посредством парацентеза или аналогичной процедуры, повышать аппетит, уменьшать боли в животе, уменьшать вздутие живота, уменьшать тошноту, уменьшать рвоту и/или уменьшать изжогу после лечения.

В некоторых вариантах осуществления введение соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) субъекту приводит к полной ремиссии. В некоторых вариантах осуществления введение соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) субъекту дает минимальное остаточное заболевание (МОЗ; метастазы остаточной опухоли <1 см). В некоторых вариантах осуществления введение соединения структуры (I) или его фармацевтически

приемлемой соли (например, тартрата) субъекту не дает остаточное заболевание (ООЗ; нет определяемых остаточных метастазов). В некоторых вариантах осуществления введение соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) субъекту дает значительное остаточное заболевание (ЗОЗ; метастазы остаточной опухоли >1 см), но со статистически значимым уменьшением общего объема опухоли по сравнению с предыдущими измерениями. В конкретных вариантах осуществления введение соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) множеству субъектов дает увеличение одного или нескольких из следующих показателей: выживаемость без прогрессирования, частота полной ремиссии, бессобытийная выживаемость и/или общая выживаемость относительно нелеченного множества субъектов. В вариантах осуществления изобретения введение соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) субъекту приводит к реверсии эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП).

Соединение структуры (I) может быть в форме свободной кислоты или свободного основания или в форме фармацевтически приемлемой соли. В вариантах осуществления способы лечения, раскрытые в данном документе, включают введение тартрата (например, ди-тартрата) соединения структуры (I). В некоторых вариантах осуществления тартратом является дитартрат. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) присутствует в виде пролекарства.

5. Дополнительные способы лечения солидных опухолей

В настоящем документе представлены способы лечения солидной опухоли у субъекта, у которого солидная опухоль прогрессировала при иммунотерапии. В некоторых вариантах осуществления опухоль прогрессировала после достижения наилучшего задокументированного ответа, по меньшей мере, стабильного заболевания (т.е. SD, PR или CR) после иммунотерапии. В некоторых вариантах осуществления опухоль прогрессировала после достижения наилучшего задокументированного ответа, по меньшей мере, стабильного заболевания (т.е. SD, PR или CR) после, по меньшей мере, 2 курсов (например, 8 недель) иммунотерапии. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту соединения структуры (I) (например, тартрата, например, формы A). В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту Формы A соединения структуры (I). В некоторых вариантах осуществления субъект продолжает лечение своей предыдущей иммунотерапией в сочетании с соединением структуры (I) (например, тартратом, например, формой A).

В настоящем документе также представлены способы лечения EGFR+ немелкоклеточного рака легкого (НМКРЛ) у субъекта. В некоторых вариантах осуществления у субъекта продемонстрировано прогрессирование после лечения ИТК. В некоторых вариантах осуществления субъект продемонстрировал прогрессирование после наилучшего задокументированного ответа, по меньшей мере, стабильного заболевания (т.е. SD, PR или CR) на ≤2 линий пероральных ИТК. В некоторых вариантах осуществления субъект продолжает лечение по своей схеме ИТК в сочетании с

соединением структуры (I) (например, тартратом, например, формой A). В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту соединения структуры (I) (например, тартрата). В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту Формы A соединения структуры (I).

В настоящем документе также представлены способы лечения BRAF-, KRAS- или NRAS-мутированной колоректальной карциномы (КРК) у субъекта. В некоторых вариантах осуществления субъектом является пациент, для которого не осталось стандартной терапии. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту соединения структуры (I) (например, тартрата). В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту Формы A соединения структуры (I).

В данном документе также представлены способы лечения стойкого и/или рецидивирующего рака яичников у субъекта. В некоторых вариантах осуществления рак является не поддающимся лечению платиной и/или резистентным к платине. В некоторых вариантах осуществления рак является не поддающимся лечению платиной и/или резистентным к платине, и субъекту вводили любое количество предыдущей таргетной терапии. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту соединения структуры (I) (например, тартрата). В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту Формы A соединения структуры (I).

В настоящем документе также представлены способы лечения меланомы с мутацией BRAF у субъекта. В некоторых вариантах осуществления субъект прогрессирует при иммунотерапии. В некоторых вариантах осуществления субъект прогрессирует при комбинированном ингибиторе BRAF/MEK. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту соединения структуры (I) (например, тартрата). В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту Формы A соединения структуры (I).

Следующие ниже варианты осуществления относятся к любому из способов лечения, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят перорально один раз в день. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят перорально один раз в день в течение 21 дня с последующими 7 днями без лекарственного средства (т.е. 28-дневный курс). В некоторых вариантах осуществления 28-дневный курс повторяется. В некоторых вариантах осуществления доза соединения структуры (I) (например, тартрата, например, формы A) пересчитывается в начале каждого нового курса лечения, чтобы отразить изменения площади поверхности тела (ППТ), которые могли произойти во время предыдущего курса. В некоторых вариантах осуществления дозы корректируются только в том случае, если наблюдается увеличение или уменьшение массы тела на $\geq$10% по сравнению с исходным уровнем. В некоторых вариантах осуществления изобретения дозирование повторяют каждый курс при отсутствии

прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) принимают утром после ночного голодания, запивая до 200 мл или 7 жидких унций воды по меньшей мере, за 1 час до приема пищи или других лекарственных средств.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят ежедневно в дозе от 1 мг/м^2 до 65 мг/м^2 включительно. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят ежедневно в дозе примерно 1,5 мг/м^2, 3,0 мг/м^2, 6,0 мг/м^2, 9,0 мг/м^2, 12,0 мг/м^2, 16,0 мг/м^2, 21,0 мг/м^2, 28,0 мг/м^2, 37,0 мг/м^2, 49,0 мг/м^2 или 65,0 мг/м^2. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят ежедневно в дозе, превышающей 65,0 мг/м^2.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят в начальной дозе 1,5 мг/м^2. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят в начальной дозе 1,5 мг/м^2 в течение 21 из 28 дней в 28-дневном курсе дозирования. В некоторых вариантах осуществления дозу соединения структуры (I) (например, тартрата, например, формы A) увеличивают между курсами приема. В некоторых вариантах осуществления дозу соединения структуры (I) (например, тартрата, например, формы A) увеличивают на 30-100% между курсами.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят в начальной дозе 1,5 мг/м^2 в течение 21 из 28 дней в 3 группах субъектов с использованием стандартной схемы 3+3. Например, в некоторых вариантах осуществления, как только первый субъект в каждой группе завершил 14 дней приема дозы без ОДТ, второй и третий субъекты включаются одновременно с одной и той же дозой. В некоторых вариантах осуществления, как только последний зарегистрированный субъект завершил 28-й день без наблюдения ОДТ, а следующий более высокий уровень дозы соединения структуры (I) еще не изучен, дозу увеличивают в соответствии с модифицированной схемой увеличения дозы Фибоначчи в новой группе из 3 субъектов в соответствии с уровнями доз, указанными в таблице 20.

В некоторых вариантах осуществления, если ОДТ наблюдается у 1 из 3 субъектов при заданном уровне дозы, до 3 дополнительных субъектов включаются и получают лечение на этом уровне дозы. В некоторых вариантах осуществления, если до 3 дополнительных субъектов добавляются к данному уровню дозы, если только 1 из этих 6 субъектов испытывает ОДТ, доза увеличивается до следующего уровня дозы. В некоторых вариантах осуществления, если $\geq$2 из 3-6 субъектов на данном уровне дозы испытывают ОДТ, доза уменьшается до предыдущего (более низкого) уровня дозы, и 3 дополнительных субъекта будут включены в этот уровень дозы. В некоторых вариантах осуществления, если 0 или 1 субъект в любом из 6 субъектов испытывают ОДТ, но следующий более высокий уровень дозы уже изучен, то текущая доза объявляется МПД.

В некоторых вариантах осуществления МПД определяется как доза, при которой ≤1 из 6 субъектов испытывают ОДТ во время цикла 1, а следующую более высокую дозу имеют, по меньшей мере, 2 из 36 субъектов, испытывающих ОДТ во время курса 1.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят в виде фиксированной дозы (т.е. вместо ППТ). В некоторых вариантах осуществления фиксированной дозой является МПД.

В некоторых вариантах осуществления дозировка соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, *тартрата*, например, формы A) составляет примерно 1-37 мг/м^2 (например, 1-25 мг/м^2) или примерно 1-75 мг (например, 1-50 мг) в день.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форма A) поставляется в пероральной форме в виде порошка в твердых желатиновых капсулах. В некоторых вариантах осуществления капсулы с соединением структуры (I) (например, тартратом, например, формой A) составляют 1 мг, 4 мг, 16 мг, 25 мг или 100 мг. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) упаковывают в круглые бутылки из полиэтилена высокой плотности с полиэфирной ватой в качестве наполнителей свободного пространства. В определенных вариантах осуществления бутылки затем запечатывают, снабжают защитными крышками от детей и помещают в полиэтиленовые пакеты низкой плотности в качестве вторичной упаковки.

6. Дополнительные способы лечения ХЛЛ/МЛЛ

В данном документе предложены способы лечения хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ) и/или мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы (МЛЛ) у субъекта. В некоторых вариантах осуществления субъект не переносит или демонстрирует прогрессирование заболевания на антагонистах B-клеточного рецептора и/или антагонистах BCL-2. В некоторых вариантах осуществления субъект не переносит или демонстрирует прогрессирование заболевания при использовании других исследуемых способов лечения ХЛЛ/МЛЛ. В некоторых вариантах осуществления субъект демонстрирует прогрессирование заболевания на ибрутинибе. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту соединения структуры (I) (например, тартрата, например, формы A). В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту Формы A соединения структуры (I).

Следующие ниже варианты осуществления относятся к любому из способов лечения, представленных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят перорально один раз в день. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят перорально один раз в день в течение 28-дневного курса. В некоторых вариантах осуществления изобретения дозирование повторяют в течение одного или нескольких 28-

дневных курсов (например, при отсутствии прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности). В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форма A) принимают утром после ночного голодания, запивая до 200 мл или 7 жидких унций воды по меньшей мере, за 1 час до приема пищи или других лекарственных средств. В некоторых вариантах осуществления ибрутиниб вводят перорально один раз в день в сочетании с соединением структуры (I) (например, тартратом, например, формой A).

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят ежедневно в фиксированной дозе от 20 мг до 100 мг включительно. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят ежедневно в виде фиксированной дозы примерно 20, 25, 33, 45, 50, 58, 75 или 100 мг. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят ежедневно в фиксированной дозе более 100 мг.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят в виде монотерапии. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят в виде стандартной дозы 25 мг в качестве монотерапии. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят перорально один раз в день в однократной дозе 25 мг в течение 28 дней. В некоторых вариантах осуществления 28-дневный курс повторяется один или несколько раз. В некоторых вариантах осуществления субъект продолжает получать соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) в 28-дневных курсах в той же введенной дозе до тех пор, пока он не испытает неприемлемую токсичность или однозначное прогрессирование заболевания. В некоторых вариантах осуществления доза соединения структуры (I) (например, тартрата, например, формы A) увеличивается между курсами. В некоторых вариантах осуществления доза увеличивается примерно на 25-36% между курсами. В некоторых вариантах осуществления доза увеличивается на основе уровней увеличения дозы в Таблице 22.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят в сочетании с ибрутинибом. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят ежедневно в фиксированной дозе 20 мг в сочетании с ибрутинибом. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят перорально один раз в день в фиксированной дозе 20 мг в течение 28 дней в сочетание с ибрутинибом. В некоторых вариантах осуществления ибрутиниб вводят в той же дозе, которую они получали непосредственно перед началом лечения соединением структуры (I) (например, тартратом, например, формой A). В некоторых вариантах осуществления субъект продолжает прием сочетания ибрутиниба и соединения структуры (I) (например, тартрата, например, формы A) в течение по меньшей мере 3 месяцев после

начала лечения соединением структуры (I) (например, тартратом, например формой A). В некоторых вариантах осуществления после этого субъекты либо продолжают комбинированную терапию, либо прекращают лечение ибрутинибом и продолжают монотерапию соединением структуры (I) (например, тартратом, например, формой A). В некоторых вариантах осуществления введение ибрутиниба прекращается и возобновляется. В некоторых вариантах осуществления субъект продолжает получать соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) 28-дневными курсами в той же дозе до тех пор, пока он не испытает неприемлемую токсичность или однозначное прогрессирование заболевания. В некоторых вариантах осуществления 28-дневный курс повторяется один или несколько раз. В некоторых вариантах осуществления субъект продолжает получать соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) в 28-дневных курсах в той же вводимой дозе до тех пор, пока он не испытает неприемлемую токсичность или однозначное прогрессирование заболевания.

В некоторых вариантах осуществления доза соединения структуры (I) (например, тартрата, например, формы A) увеличивается между 28-дневными курсами. В некоторых вариантах осуществления доза увеличивается примерно на 25-36% между курсами. В некоторых вариантах осуществления доза увеличивается на основе уровней увеличения дозы в Таблице 22.

В некоторых вариантах осуществления, как описано выше, доза соединения структуры (I) (например, тартрата, например, формы A) увеличивается между курсами. В некоторых вариантах осуществления увеличение дозы соединения структуры (I) (например, тартрата, например, формы A) следует стандартной схеме 3+3 с последовательными группами из 3 субъектов, получавших постепенно более высокие дозы соединения структуры (I) (например, тартрата, например, формы A) до тех пор, пока не будет наблюдаться ОДТ и не будет установлена МПД. В некоторых вариантах осуществления, после включения первого субъекта на определенный уровень дозы, второго и третьего субъектов включают через 3 недели, если исходный субъект не испытал ОДТ или какой-либо неприемлемой токсичности.

В определенных вариантах осуществления, если 1 из 3 субъектов в группе испытывает ОДТ, до 3 дополнительных субъектов получают лечение на этом уровне дозы. В некоторых вариантах осуществления, если в расширенной группе из 3-6 субъектов не наблюдаются дополнительные ОДТ в течение 28 дней после того, как последний субъект получил первую дозу, доза увеличивается в новой группе из 3 субъектов. В некоторых вариантах осуществления, если 2 или более из 3-6 субъектов при заданном уровне дозы испытывают ОДТ в течение первого цикла, то МПД превышается, и всего до 6 субъектов будут лечиться на предыдущем более низком уровне дозы. В некоторых вариантах осуществления, если 0 или 1 из 6 субъектов испытывают ОДТ на этом предыдущем более низком уровне дозы, эта доза объявляется МПД. МПД определяется как доза, при которой $\leq$1 из 6 субъектов испытывают ОДТ во время курса 1, а следующая более высокая доза дает, по меньшей мере, 2 из 3-6 субъектов, испытывающих ОДТ во время курса 1. В

некоторых вариантах осуществления после определения МПД или предварительно рекомендованной дозы фазы 2 (RP2D) в каждую группу субъектов включается расширенная группа до шести субъектов. В некоторых вариантах осуществления МПД является RP2D.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят в RP2D перорально один раз в день в течение 28 дней. В некоторых вариантах осуществления изобретения дозирование соединения структуры (I) (например, тартрата, например, формы A) может продолжаться до тех пор, пока субъект не испытает неприемлемую токсичность или однозначное прогрессирование заболевания.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) вводят в RP2D перорально один раз в день в течение 28 дней в сочетании с ибрутинибом. В некоторых вариантах осуществления субъекту вводят ибрутиниб в той же дозе, которую он получал непосредственно перед началом лечения соединением структуры (I) (например, тартратом, например, формой A).

В некоторых вариантах осуществления доза соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата, например, формы A) составляет примерно 1-37 мг/м^2 (например, 1-25 мг/м^2) или примерно 1-75 мг (например, 1-50 мг) в день. В некоторых вариантах осуществления доза соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата, например, формы A) составляет примерно 1-37 мг/м^2 (например, 1-25 мг/м^2) или примерно 1-75 мг (например, 1-50 мг) в день в сочетании с ибрутинибом.

В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форма A) поставляется в пероральной форме в виде порошка в твердых желатиновых капсулах. В некоторых вариантах осуществления капсулы с соединением структуры (I) (например, тартратом, например, формой A) составляют 1 мг, 4 мг, 16 мг, 25 мг и 100 мг. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (I) (например, тартрат, например, форму A) упаковывают в круглые бутылки из полиэтилена высокой плотности с полиэфирной ватой в качестве наполнителей свободного пространства. В определенных вариантах осуществления бутылки затем запечатывают, снабжают защитными крышками от детей и помещают в полиэтиленовые пакеты низкой плотности в качестве вторичной упаковки.

7. Дополнительные терапевтические применения соединения структуры (I) (например, свободного основания или его фармацевтически приемлемой соли, такой как тартрат, например, формы A) включают лечение меланомы (например, BRAF-меланомы и/или метастатической меланомы), либо отдельно или в сочетании с одним или несколькими ингибиторами контрольных точек, например ингибиторами контрольных точек PD-1, PD-L1 или CTLA-4). Любой из таких ингибиторов контрольной точки можно использовать совместно с соединением структуры (I) при лечении меланомы. В некоторых примерах ингибитором контрольной точки может быть ингибитор PD-1, такой как

пембролизумаб. Любое из условий лечения (например, дозировка, схема дозирования, способ введения и т.д.), как описано в данном документе, может применяться при лечении меланомы, как описано в данном документе.

8. Дополнительные терапевтические применения соединения структуры (I) (например, свободного основания или его фармацевтически приемлемой соли, такой как тартрат, например, формы A) также включают лечение опухоли головного мозга (например, МФГ), отдельно или в сочетании с одним или несколькими ингибиторами контрольных точек, например ингибиторами контрольных точек PD-1, PD-L1 или CTLA-4. Любой из таких ингибиторов контрольной точки можно использовать совместно с соединением структуры (I) при лечении меланомы. В некоторых примерах ингибитором контрольной точки может быть ингибитор PD-1, такой как пембролизумаб. Любое из условий лечения (например, дозировка, схема дозирования, способ введения и т.д.), как описано в данном документе, может применяться при лечении меланомы, как описано в данном документе.

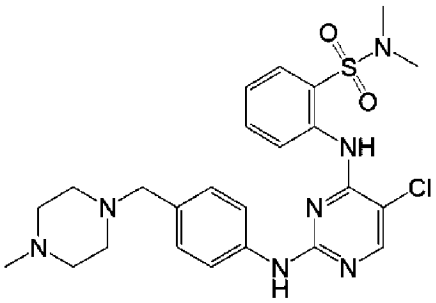
E. СПОСОБЫ СИНТЕЗА

1. Синтез тартраов соединения структуры (I)

Специалистам в данной области техники будет понятно, что процессы и реакции для получения описанных здесь соединений (включая соли соединения структуры (I)) могут быть модифицированы в соответствии со стандартными методами для включения альтернативных реагентов и/или условий реакции. Например, в промежуточном продукте реакции, имеющем галогеновый заместитель (например, F, Cl, Br, I), можно альтернативно использовать сульфонат. Типовые сульфонаты также называют «псевдогалогенидами», они включают, но не ограничиваются ими, п-толуолсульфонат (OT), метансульфонат (OM) или перфторалкилсульфонаты (например, трифлат).

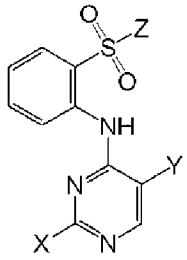
Восстанавливающие агенты включают алюмогидрид лития, образующийся (атомарный) водород, водород без или с подходящим катализатором, например, катализатором Линдлара, амальгаму натрия или цинка (Na(Hg) или Zn(Hg)), натрий-свинцовый сплав (Na+Pb), диборан, боргидрид натрия, тетрагидрофуран борана, восстанавливающие агенты на основе железа (например, сульфат железа(II)), восстанавливающие агенты на основе олова (например, хлорид олова(II)), диоксид серы, сульфитные соединения, дитионаты (например, $Na_2S_2O_6$), тиосульфаты (например, $Na_2S_2O_3$), гидразин, гидрид диизобутилалюминия, щавелевую кислоту, муравьиную кислоту, аскорбиновую кислоту, восстанавливающие сахара, фосфиты, гипофосфиты, дитиотреитол (ДТТ), гидрохлорид трис-2-карбоксиэтилфосфина (TCEP).

Соответственно, один вариант осуществления (далее «Стадия A») представляет способ получения соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли (например, его тартрата), где способ включает взаимодействие соединения, имеющего следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли, где:

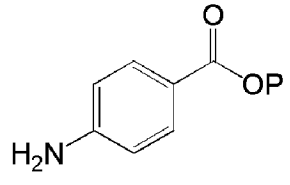
X является уходящей группой;

Y является галогеном;

Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$; и

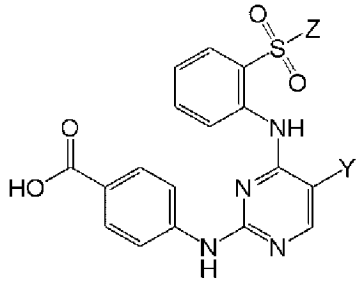
R^1 и R^2, каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

с соединением, имеющим следующую структуру:



,

где P является H или защитной групой, с получением соединения, имеющего следующую структуру:



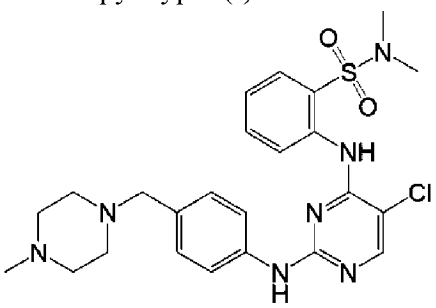
.

В некоторых вариантах осуществления X является галогеном или сульфонатом. В некоторых конкретных вариантах осуществления X является фтором, хлором, бромом или йодом. В некоторых более конкретных вариантах осуществления X является хлором.

В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления P является H. В некоторых вариантах осуществления P образует сложный метиловый эфир, сложный бензиловый эфир, сложный трет-бутиловый эфир, сложный силиловый эфир, сложный

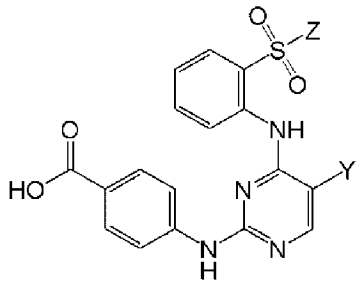
ортоэфир или оксазолин.

Другой вариант осуществления (далее «Стадия B») представляет способ получения соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли (например, его тартрата), где способ включает взаимодействие соединения, имеющего следующую структуру:



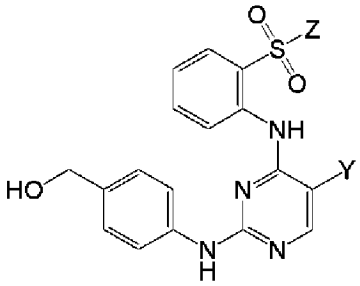
или его фармацевтически приемлемой соли, где:

Y является галогеном;

Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2, каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

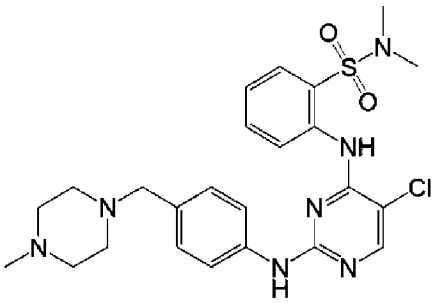
с восстанавливающим агентом для получения соединения, имеющего следующую структуру:



.

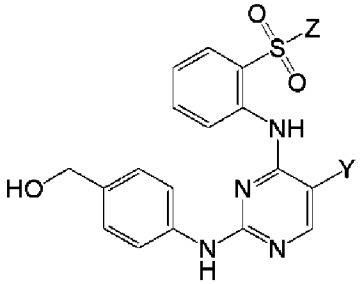
В некоторых вариантах осуществления восстанавливающим агентом является алюмогидрид лития, диборан, боргидрид натрия, боран или их сочетание. В некоторых более конкретных вариантах осуществления восстанавливающим агентом является боран.

Еще один вариант осуществления (далее «Стадия C») представляет способ получения соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли (например, его тартрата), где способ включает взаимодействие соединения, имеющего следующую структуру:



,

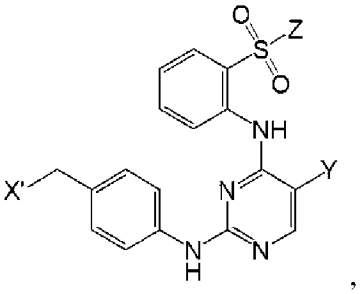
или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Y является галогеном;

Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2, каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

с активирующим агентом для получения соединения, имеющего следующую структуру:



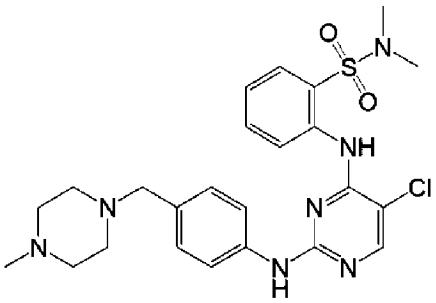
,

или его фармацевтически приемлемой соли, где:

X’ является уходящей группой.

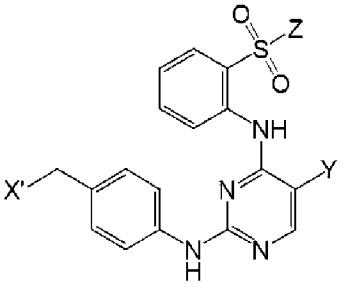
В некоторых вариантах осуществления активирующий агент содержит функциональную группу сульфонилхлорида. Например, в некоторых вариантах осуществления активирующим соединением является тионилхлорид.

Еще один вариант осуществления (далее «Стадия D») представляет способ получения соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли (например, его тартрата), где способ включает взаимодействие соединения, имеющего следующую структуру:



,

или его фармацевтически приемлемой соли, где:

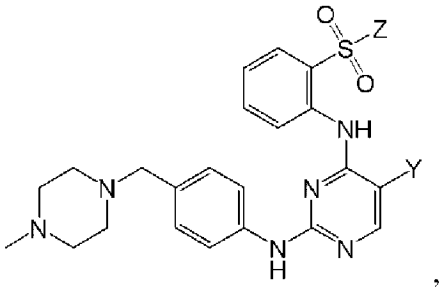
X' является уходящей группой;

Y является галогеном;

Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2, каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

с N-метилпиперазином или его солью с получением соединения, имеющего следующую структуру:



,

или его фармацевтически приемлемой соли.

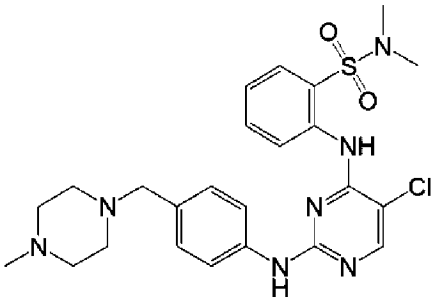
В некоторых из вышеизложенных вариантов осуществления X' является галогеном или сульфонатом. В некоторых вариантах осуществления X' является фтором, хлором, бромом или йодом. В некоторых вариантах осуществления X' является хлором.

В некоторых вариантах осуществления Y является фтором, хлором, бромом или йодом. Например, в некоторых конкретных вариантах осуществления Y является хлором.

В некоторых конкретных вариантах осуществления Z является $-NR^1(R^2)$. В некоторых более конкретных вариантах осуществления R^1 является C_1-C_8 алкилом. В других связанных вариантах осуществления R^2 является C_1-C_8 алкилом. В более конкретных вариантах осуществления R^1 является метилом, этилом, пропилом или

изопропилом. Например, в некоторых вариантах осуществления R^1 является метилом. Аналогично, в некоторых вариантах осуществления R^2 является метилом, этилом, пропилом или изопропилом. Например, в некоторых вариантах осуществления R^2 является метилом.

Другой вариант осуществления (далее «Стадия E») представляет способ получения тартрата соединения структуры (I):



(I)

где способ включает смешивание соединения структуры (I) с винной кислотой.

В некоторых вариантах осуществления способ включает добавление винной кислоты к соединению структуры (I). Например, в некоторых вариантах осуществления способ включает добавление L-(+)-винной кислоты к соединению структуры (I). В некоторых вариантах осуществления винная кислота добавляется к соединению структуры (I) в соотношении от примерно 1:1 до примерно 2:1, например, 1:1 или 2:1. В некоторых вариантах осуществления тартрат характеризуется стехиометрией, как описано выше.

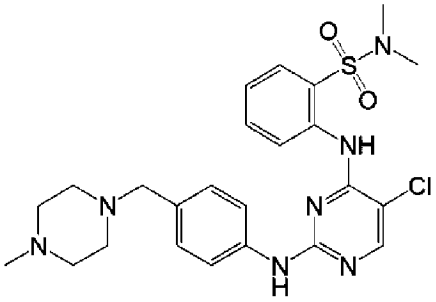
В некоторых вариантах осуществления представлен способ получения соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, его тартрата), включающий стадии A и B, стадии A, B и C, стадии A, B, C и D, стадии A, B, C, D и E, стадии B и C, стадии B, C и D, стадии B, C, D и E, стадии C и D, стадии C, D и E или стадии D и E. В некоторых вариантах осуществления способ включает стадии A и C, стадии A, C и D, стадии A, C, D и E, стадии A, B и D, стадии A, B, D и E, стадии A , B, C и E, стадии B и D, стадии B, D и E, стадии A и C, стадии A и D, стадии A и E, стадии B и E или стадии C и E.

Специалистам в данной области также будет понятно, что в способах получения описанных здесь соединений функциональные группы промежуточных соединений могут нуждаться в защите подходящими защитными группами. Такие функциональные группы включают, но не ограничиваются ими, гидрокси, амино, меркапто и карбоновую кислоту. Подходящие защитные группы для гидрокси включают триалкилсилил или диарилалкилсилил (например, трет-бутилдиметилсилил, трет-бутилдифенилсилил или триметилсилил), тетрагидропиранил, бензил и подобные. Подходящие защитные группы для амино, амидино и гуанидино включают трет-бутоксикарбонил, бензилоксикарбонил и подобные. Подходящие защитные группы для меркапто включают C(O)R" (где R" является алкилом, арилом или арилалкилом), п-метоксибензил, тритил и подобные.

Подходящие защитные группы для карбоновой кислоты включают сложные алкиловые, ариловые или арилалкиловые эфиры. Защитные группы необязательно добавляются или удаляются в соответствии со стандартными методами, которые известны специалисту в данной области и как описано здесь. Использование защитных групп подробно описано в Green, T.W. and P.G.M. Wutz, Protective Groups in Organic Synthesis (1999), 3rd Ed., Wiley. Как будет понятно специалисту в данной области, защитная группа также может быть полимерной смолой, такой как смола Ванга, смола Ринка или смола 2-хлортритилхлорид.

Специалистам в данной области также будет понятно, что, хотя такие защищенные производные соединений по настоящему изобретению могут не обладать фармакологической активностью как таковые, их можно вводить млекопитающему, а затем метаболизировать в организме с образованием соединений по настоящему изобретению, которые являются фармакологически активными. Следовательно, такие производные можно назвать «пролекарствами». Все пролекарства соединений, описанных в данном документе, включены в объем вариантов осуществления изобретения.

Следующая общая схема реакции иллюстрирует типичный способ образования тартрата соединения структуры (I):



(I)

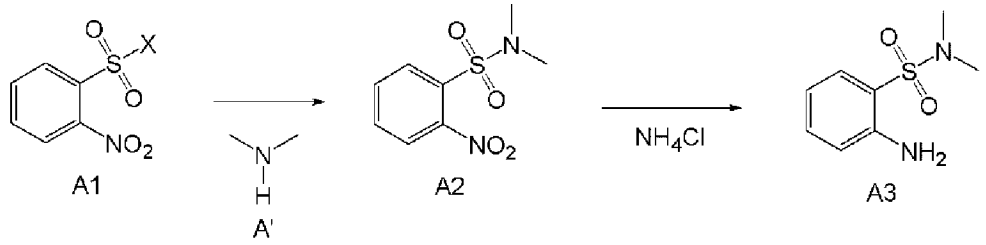
Понятно, что специалист в данной области может получить эти соли аналогичными способами или путем объединения других способов, известных специалисту в данной области. Также понятно, что специалист в данной области сможет получить аналогично тому, как описано ниже, другие соли соединения структуры (I), конкретно не проиллюстрированные ниже, используя соответствующие исходные компоненты и изменяя параметры синтеза по мере необходимости. В общем, исходные компоненты могут быть получены из таких источников, как Sigma Aldrich, Lancaster Synthesis, Inc., Maybridge, Matrix Scientific, TCI и Fluorochem USA и т.д., или синтезированы согласно источникам, известным специалистам в данной области (см. например, Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5th edition (Wiley, December 2000)) или получены, как описано в данном изобретении.

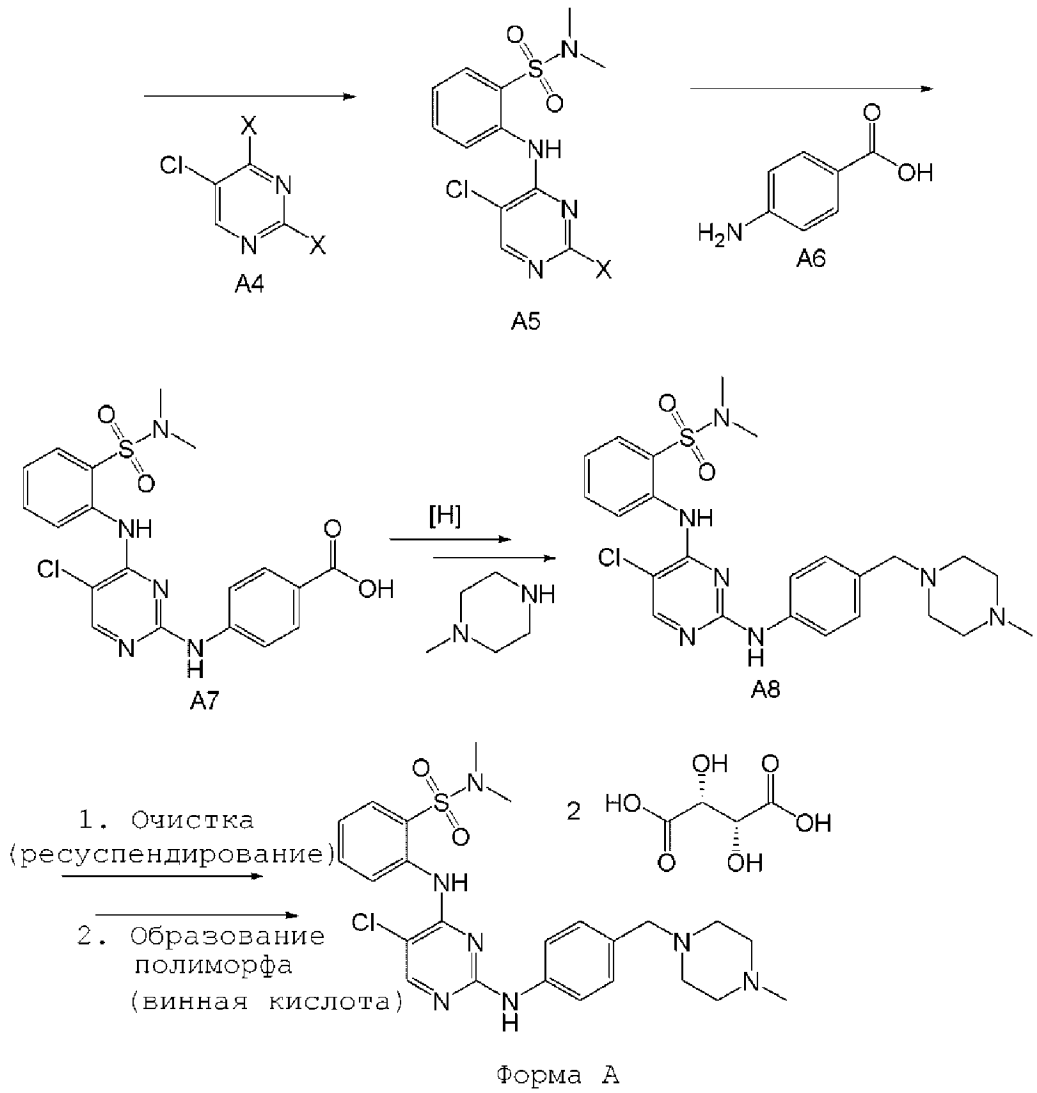
Соединения и соли анализировали с использованием методов, известных в данной области, например, с помощью порошковой рентгеновской дифракции (ПРД), динамической сорбции паров (ДСП), термогравиметрического анализа (ТГА), дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), масс-спектрометрии и/или 1Н ЯМР. Методики синтеза описаны более подробно ниже.

2. Синтез кристаллических форм

Варианты осуществления тартрата соединения структуры (I) и его полиморфов (например, формы A) могут быть получены в соответствии с приведенной ниже общей реакционной схемой, где каждый X является галогенидом или псевдогалогенидом (например, трифлатом, нонафлатом, мезилатом, тозилатом и т.д.). Некоторые промежуточные продукты, используемые для получения тартрата соединения структуры (I), могут быть получены в соответствии со способами, описанными в WO 2012/135800, которая полностью включена в настоящий документ в качестве ссылки. Как показано на общей схеме реакции, соединения структуры A1 могут быть приобретены из коммерческих источников или получены способами, известными специалисту в данной области, включая способы, представленные в примерах (см., например, пример 6). Взаимодействие A1 с аминовым реагентом A' (полученным по известным методикам или приобретенным из коммерческих источников) дает A2. Затем фенилнитро соединение A2 можкт быть превращено в анилин A3, который сочетают с A4 с образованием пиримидинсодержащего продукта A5. Пиримидинсодержащий продукт A5, затем сочетают с анилиновым соединением A6 с получением A7. Затем A7 может быть восстановлен, по мере необходимости (например, с использованием BH_3 ТГФ) и активирован (например, с использованием тионилхлорида, реагента Коминса) с получением соединения A8 (т.е. структуры (I)). Затем соединение A8 очищают и превращают в желаемый полиморф/соль путем добавления соответствующей кислоты (например, винной) в подходящих условиях (например, при нагревании и охлаждении после двух стадий очистки ресуспендированием).

Общая схема реакции



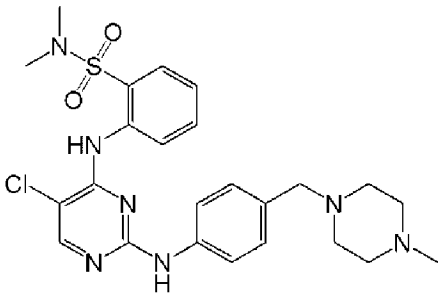


Форма А

Следует отметить, что общая схема реакции изображает только примерный способ получения тартрата соединения структуры (I), и доступны другие способы, включая способы получения тартрата соединения структуры (I) с использованием разных реагентов и/или разных промежуточных продуктов и т. д.

В других конкретных вариантах осуществления представлены способы получения полиморфов из соединения структуры (I). Например, в одном варианте осуществления представлен способ получения полиморфа, включающий:

а) очистку свободного основания соединения, имеющего следующую структуру (I):



(I).

с выделением очищенного свободного основания, содержащего менее примерно

30% моль триэтиламина;

б) растворение очищенного свободного основания с образованием раствора для перекристаллизации, содержащего очищенное свободное основание; и

с) обработку раствора для перекристаллизации винной кислотой с образованием полиморфа.

В некоторых вариантах осуществления очищенное свободное основание содержит менее примерно 25% моль триэтиламина, менее примерно 20% моль триэтиламина, менее примерно 15% моль триэтиламина, менее примерно 10% моль триэтиламина, менее примерно 5% моль триэтиламина, менее примерно 4% моль триэтиламина, менее примерно 3% моль триэтиламина, менее примерно 2% моль триэтиламина, менее примерно 1% моль триэтиламина или менее примерно 0,5% моль триэтиламина.

В некоторых конкретных вариантах осуществления винной кислотой является L-(+)-винная кислота.

В некоторых конкретных вариантах осуществления винную кислоту добавляют в молярном соотношении от примерно 2,5:1 до примерно 0,75:1 по отношению к свободному основанию. В более конкретных вариантах осуществления винную кислоту добавляют в молярном соотношении от примерно 2,3:1 до примерно 0,9:1 по отношению к свободному основанию. В более конкретных вариантах осуществления винную кислоту добавляют в молярном соотношении от примерно 2,2:1 до примерно 1,5:1 по отношению к свободному основанию. В некоторых вариантах осуществления винную кислоту добавляют в молярном соотношении примерно 2:1 по отношению к свободному основанию.

В некоторых вариантах осуществления очистка включает первую очистку, включающую контакт свободного основания с первым растворителем с получением первой суспензии. В некоторых вариантах осуществления первым растворителем является органический растворитель. В некоторых вариантах осуществления первым растворителем является спирт (например, метанол, этанол, изопропиловый спирт, н-пропиловый спирт, бутанол и подобные). В некоторых конкретных вариантах осуществления первым растворителем является этанол.

В некоторых вариантах осуществления первая очистка дополнительно включает нагревание первой суспензии при температуре, по меньшей мере, примерно 50°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления первая очистка дополнительно включает нагревание первой суспензии при температуре, по меньшей мере, примерно 65°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления первая очистка дополнительно включает нагревание первой суспензии при температуре, по меньшей мере, примерно 45°C, 55°C, 57°C, 60°C, 62°C, 67°C, 70°C, 72°C или 75°C.

В некоторых вариантах осуществления первая очистка дополнительно включает удаление первого растворителя с образованием твердого продукта.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает вторую очистку, включающую контакт твердого продукта с очищающей смесью с образованием

второй суспензии. В некоторых вариантах осуществления очищающая смесь содержит второй растворитель, третий растворитель и очищающий реагент. В некоторых более конкретных вариантах осуществления вторым растворителем является органический растворитель. В некоторых вариантах осуществления вторым растворителем является спирт. В некоторых вариантах осуществления вторым растворителем является этанол. В некоторых вариантах осуществления третим растворителем является органический растворитель. В более конкретных вариантах осуществления третим растворителем является хлороформ. В некоторых вариантах осуществления очищающим реагентом является активированный уголь.

В некоторых более конкретных вариантах осуществления раствор для перекристаллизации дополнительно содержит растворитель перекристаллизации. В более конкретных вариантах осуществления растворитель перекристаллизации содержит органический растворитель. В некоторых вариантах осуществления растворитель перекристаллизации содержит спирт. В некоторых вариантах осуществления растворитель перекристаллизации содержит этанол. В некоторых вариантах осуществления растворитель перекристаллизации дополнительно содержит анизол.

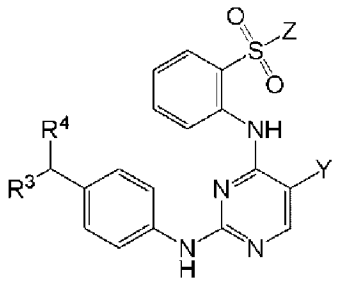
В некоторых вариантах осуществления растворение дополнительно включает нагревание раствора для перекристаллизации при температуре, по меньшей мере, примерно 50°C. В более конкретных вариантах осуществления нагревание происходит при температуре, по меньшей мере, примерно 60°C. В еще более конкретных вариантах осуществления нагревание происходит при температуре, по меньшей мере, примерно 65°C. В еще более конкретных вариантах осуществления нагревание происходит при температуре, по меньшей мере, примерно 55°C, 57°C, 62 °C, 67°C, 70°C, 72°C или 75°C.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает охлаждение раствора для перекристаллизации до температуры ниже примерно 25°C (например, ниже примерно 20°C, 15°C, 10°C или 0°C). В некоторых более конкретных вариантах осуществления способ дополнительно включает охлаждение раствора для перекристаллизации до температуры ниже примерно 20°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления способ дополнительно включает выделение полиморфа в виде твердого вещества (например, кристаллического твердого вещества).

В более конкретных вариантах осуществления кристаллическая форма имеет соотношение винной кислоты к соединению структуры (I) в диапазоне от примерно 2,25:1 до примерно 1,75:1. В некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма имеет соотношение винной кислоты к соединению структуры (I) в интервале от примерно 2,1:1 до примерно 1,9:1. В некоторых вариантах осуществления полиморф имеет соотношение винной кислоты к соединению структуры (I) примерно 2:1. В некоторых вариантах осуществления полиморфом является соль L-(+)-винной кислоты. В некоторых вариантах осуществления представлен полиморф, полученный способом по любому из предшествующих вариантов.

3. Промежуточные соединения

В другом аспекте настоящее раскрытие представляет соединение структуры (III):



(III)

или его фармацевтически приемлемая соль, или его таутомер, где:

Y является галогеном;

Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$;

R^1 и R^2, каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

R^3 является галогеном или OR^a;

R^4 является водородом или оксо; и

R^a является водородом или C_1-C_8 алкилом.

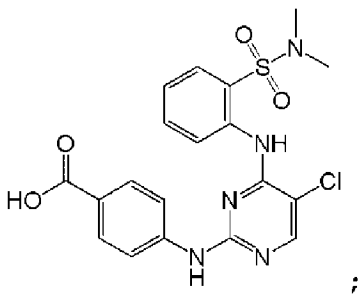
В некоторых вариантах осуществления Y является хлором.

В некоторых вариантах осуществления Z является $-NR^1(R^2)$. В некоторых конкретных вариантах осуществления R^1 является C_1-C_8 алкилом. В некоторых конкретных вариантах осуществления R^2 является C_1-C_8 алкилом. В некоторых вариантах осуществления R^1 и R^2 являются C_1-C_8 алкилом. Например, в некоторых вариантах осуществления R^1 является метилом. В другом воплощении $^R2$ является метилом. В еще одном варианте R^1 и R^2 являются метилом.

В некоторых связанных вариантах осуществления R^3 является OR^a. В некоторых вариантах осуществления R^a является H. В некоторых вариантах осуществления Ra является метилом, этилом или изопропилом. В некоторых вариантах осуществления R^3 является галогеном. В некоторых вариантах осуществления R^3 является хлором.

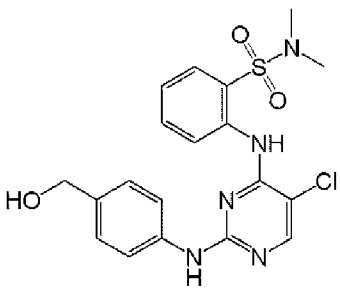
В некоторых вариантах осуществления R^4 является водородом. В некоторых других вариантах осуществления R^4 является оксо.

В некоторых конкретных вариантах осуществления соединение имеет одну из следующих структур:



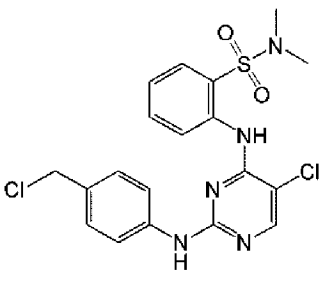
(III-a)

;



(III-b)

или

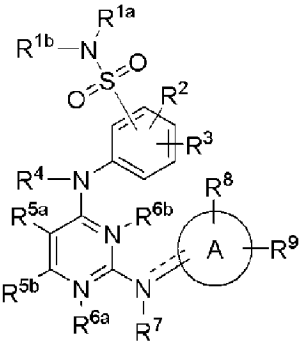


(III-c)

F. МЕТАБОЛИТЫ

1. Соединения

Соединение структуры (I) претерпевает метаболические превращения в ряд видов. См., например, Фиг. 100. Различные варианты таких соединений представлены в виде структуры (IV), подробно описанной ниже. Также представлены способы его получения. Некоторые варианты осуществления включают сложные промежуточные соединения, используемые, по меньшей мере, для получения соединений структуры (IV), все из которых считаются включенными как часть настоящего раскрытия. Один вариант осуществления представляет соединение, имеющее следующую структуру (IV):



(IV)

или его стереоизомер, фармацевтически приемлемую соль, таутомер или пролекарство,

где:

A является 6-членным ароматическим кольцом или 6-членным карбоциклическим кольцм;

R^{1a} и R^{1b} каждый независимо является H, C_1-C_6 алкилом или -OH;

R^2 и R^3, каждый независимо является H, C_1-C_6 алкилом или галогеном;

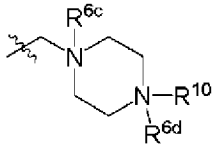
R^4 является H, C_1-C_6 алкилом или -OH;

R^{5a} и R^{5b} каждый независимо является H, C_1-C_6 алкилом или галогеном;

Каждый из R^{6a}, R^{6b}, R^{6c} и R^{6d} независимо отсутствует или является -O-;

R^7 является H, C_1-C_6 алкилом, -OH или отсутствует;

R^8 отсутствует или имеет следующую структуру:



;

R^9 отсутствует или является алкенилом при условии, что присутствует по меньшей мере, один из R^8 или R^9;

R^{10} является H или C_1-C_6 алкилом; а также

----- является двойной или одинарной связью; и

все валентности удовлетворены;

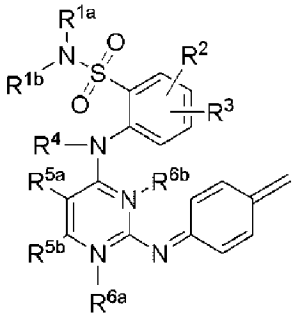
при условии, что если R^{1a} и R^{1b} оба являются метилом, то:

а. по меньшей мере, один из R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d} и R^9 является -O-;

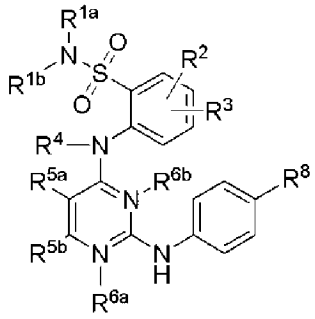
б. R^7 является C_1-C_6 алкилом, -OH или отсутствует; и/или

с. R^{10} является H.

В некоторых вариантах осуществления соединение имеет одну из следующих структур (V) или (VI):

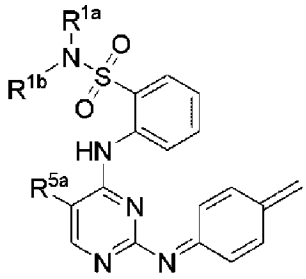


(V)

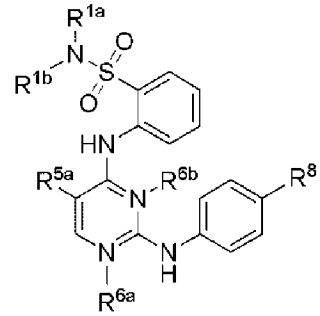


(VI)

В некоторых более конкретных вариантах осуществления соединение имеет одну из следующих структур (IIa) или (IIIa):



(IIa)



(IIIa)

В более конкретных вариантах осуществления, по меньшей мере, один из R^{1a} или R^{1b} является H. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один из R^{1a} или R^{1b} является C_1-C_6 алкилом. В более конкретных вариантах осуществления, по меньшей мере, один из R^{1a} или R^{1b} является метилом.

В других вариантах осуществления R^{1a} и R^{1b} оба являются H. В еще других вариантах осуществления R^{1a} и R^{1b} оба являются C_1-C_6 алкилом, например, R^{1a} и R^{1b} оба являются метилом.

В некоторых вариантах осуществления R^2 является H. В родственных вариантах осуществления R^3 является H. В других вариантах осуществления R^4 является H. В другом варианте осуществления R^4 отсутствует.

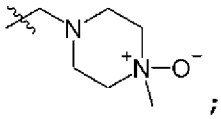
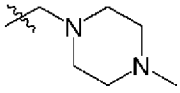
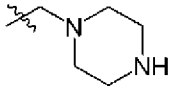
В некоторых вариантах осуществления R^{5a} является галогеном, например F, Cl, Br или I. В некоторых вариантах осуществления R^{5a} является Cl. В некоторых связанных вариантах осуществления R^{5b} является H.

В других конкретных вариантах осуществления, по меньшей мере, один из R^{6a}, R^{6b}, R^{6c} и R^{6d} является -O-, например, R^{6a} является -O-, R^{6b} является -O-, R^{6c} является -O- или R^{6d} является -O-. В некоторых вариантах осуществления R^{6d} является -O-.

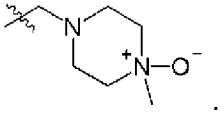
В других конкретных вариантах осуществления R^7 является H. В другом варианте осуществления R^7 отсутствует.

В некоторых вариантах осуществления R^{10} является H. В другом варианте R^{10} является C_1-C_6 алкилом, например, R^{10} является метилом, этилом или пропилом. В некоторых вариантах осуществления R^{10} является метилом.

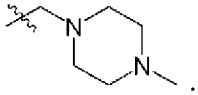
В некоторых конкретных вариантах осуществления R^8 имеет одну из следующих структур:


;

или

;

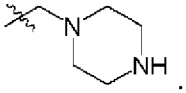
В одном конкретном варианте R^8 имеет следующую структуру:


.

В одном конкретном варианте R^8 имеет следующую структуру:

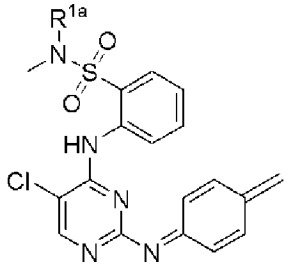

.

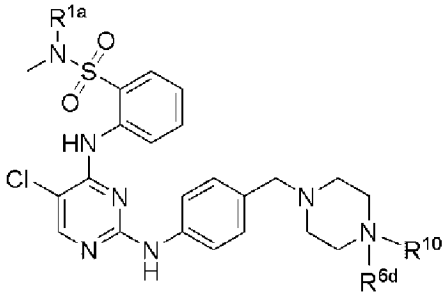
В одном конкретном варианте R^8 имеет следующую структуру:


.

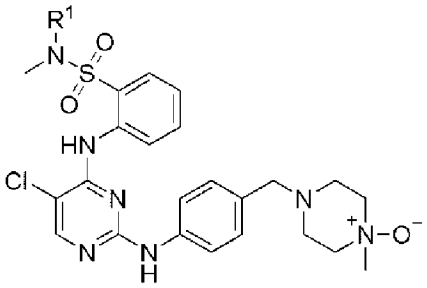
В одном варианте R^9 отсутствует.

В другом варианте осуществления структуры (IV) соединение имеет одну из следующих структур (VII) или (VIII):

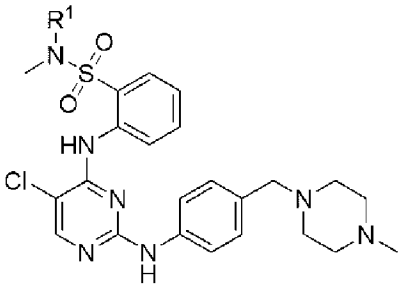

(VII)


(VIII)

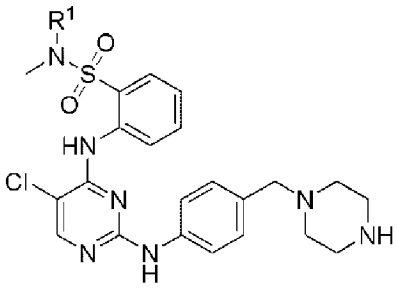
В еще одном варианте осуществления структуры (IV) соединение имеет одну из следующих структур (VIIIa), (VIIIb) или (VIIIc):



(VIIIa)

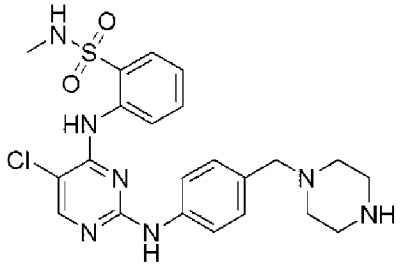


(VIIIb)



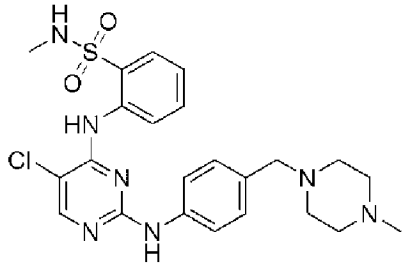
(VIIIc)

Другой вариант осуществления относится к соединению, имеющему следующую структуру:



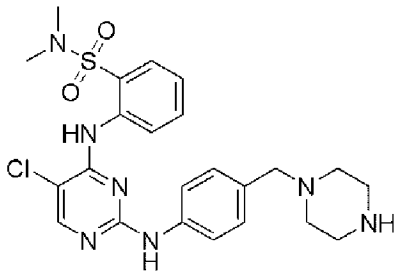
или его стереоизомеру, фармацевтически приемлемой соли, таутомеру или пролекарству.

Другой вариант осуществления относится к соединению, имеющему следующую структуру:



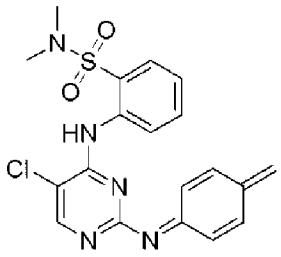
или его стереоизомеру, фармацевтически приемлемой соли, таутомеру или пролекарству.

Еще один вариант осуществления относится к соединению, имеющему следующую структуру:



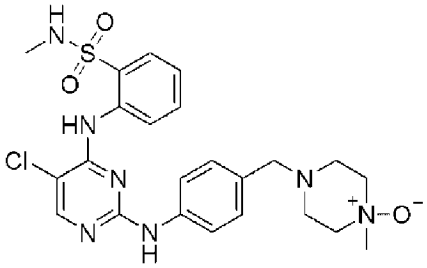
или его стереоизомеру, фармацевтически приемлемой соли, таутомеру или пролекарству.

Дополнительный вариант осуществления представляет соединение, имеющее следующую структуру:



или его стереоизомер, фармацевтически приемлемую соль, таутомер или пролекарство.

Еще один вариант осуществления представляет соединение, имеющее следующую структуру:



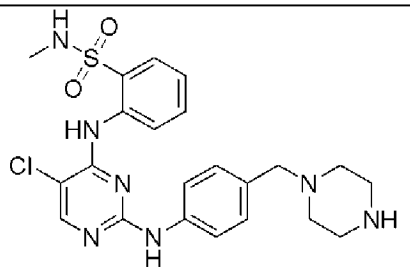
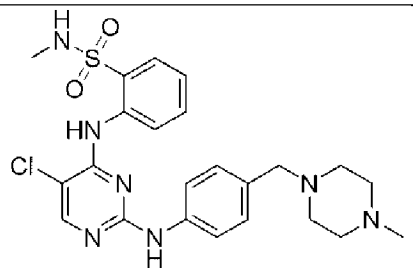
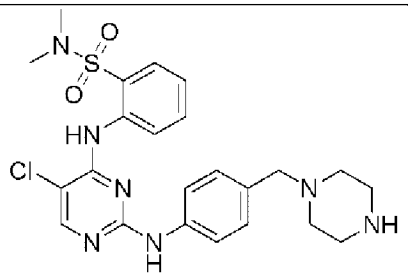
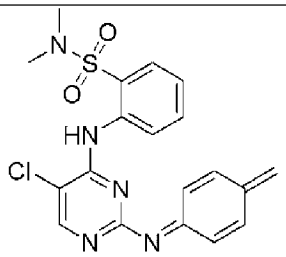
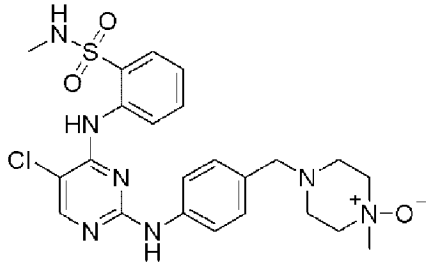
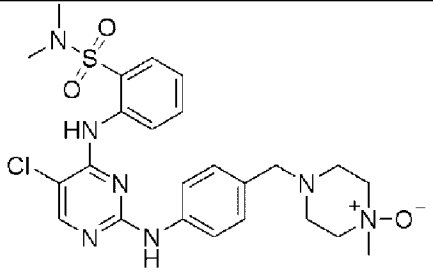
или его стереоизомер, фармацевтически приемлемую соль, таутомер или пролекарство.

В некоторых вариантах осуществления соединения структуры (IV) соединение выделяют с использованием химических методик, известных в данной области (например, очистки на колонке, дистилляции, перекристаллизации и т.д.). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления соединение структуры (IV) выделяют. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (IV) очищают. В некоторых вариантах осуществления соединение структуры (IV) выделяют и очищают.

Некоторые варианты осуществления представляют композицию, состоящую по существу из соединения структуры (IV), то есть композицию, которая по существу не содержит примесей, которые оказывают неблагоприятное влияние на композицию, относящееся к ингибированию активности киназы, по данным анализов in vitro.

В некоторых вариантах осуществления соединение выбирают из таблицы 7 и его фармацевтически приемлемых солей.

Таблица 7. Типовые соединения структуры (IV)

№	Структура	m/z $[M+H]^+$	^{1}H ЯМР
M2		488,2	Фиг. 101A
M3		502,2	Фиг. 101B.
M4		502,2	Фиг. 101C
M5		416,1	
M6		518,2	Фиг. 101D
M7		532,2	Фиг. 101E

В Таблице 7A суммированы данные по ингибированию AXL и ППК для типовых метаболитов структуры (IV).

Таблица 7А. Данные метаболита

Соед.	AXL IC50 (нМ)	% после 2 часов воздействия на гепатоциты человека	% в плазме на 21 день при дозе 16 мг/м^2 (Фиг. 102А)	% в плазме на 21 день при дозе 21 мг/м^2 (фиг.102В)
(I)	4,6	55%	38%	17%
M1	нд	1%	не обнаружено	не обнаружено
M2	8,5	2%	8%	17%
M3	8,7	13%	40%	44%
M4	9,3	8%	10%	14%
M5	нд	2%	не обнаружено	не обнаружено
M6	15,7	3%	3%	7%
M7	23,4	15%	не обнаружено	не обнаружено

Кроме того, вышеуказанные варианты осуществления включают соединение структуры (IV) в виде фармацевтически приемлемой соли, например кислотно-аддитивной соли или основно-аддитивной соли. В более конкретных вариантах осуществления кислотно-аддитивной солью является гидрохлорид, фумарат или тартрат. В некоторых вариантах осуществления кислотно-аддитивной солью является тартрат.

2. Способы

Некоторые раскрытые здесь способы служат для выбора схемы лечения нуждающегося в этом субъекта. То есть в данном раскрытии представлены способы выбора схем лечения, а также сами способы лечения. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления предложен способ выбора схем лечения и способов лечения на основе метаболического профиля. В других вариантах осуществления предложен способ выбора схемы лечения и способы лечения рака у субъекта на основе субъекта, имеющего заранее определенный генетический профиль.

Представленные здесь варианты осуществления включают способы выбора схемы лечения для субъекта на основе генетического профиля субъекта. Такие генетические профили могут быть получены любым подходящим способом (например, микрочипами, полимеразной цепной реакцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и т. д.)

В некоторых вариантах осуществления генетический профиль включает полиморфизм в гене, кодирующем фермент цитохрома Р450. Термин «ген» может включать не только кодирующие последовательности, но также регуляторные области, такие как промоторы, энхансеры и концевые области. Термин также может включать все интроны и другие последовательности ДНК, сплайсированные из транскрипта мРНК, а также варианты, полученные из альтернативных сайтов сплайсинга. Последовательности генов, кодирующие конкретный белок, могут быть ДНК или РНК, которые направляют экспрессию конкретного белка. Эти последовательности нуклеиновых кислот могут быть

последовательностью цепи ДНК, которая транскрибируется в РНК, или последовательностью РНК, которая транслируется в конкретный белок. Последовательности нуклеиновых кислот включают как полноразмерные последовательности нуклеиновых кислот, так и не полноразмерные последовательности, полученные из полноразмерного белка.

В некоторых вариантах осуществления конкретным белком является фермент, например фермент цитохрома P450. Ферменты цитохрома P450 (CYP) являются основным источником вариабельности фармакокинетики лекарственных средств и ответа. В некоторых вариантах осуществления фермент цитохрома P450 относится к семействам CYP1, CYP2 или CYP3. В некоторых вариантах осуществления изобретения ферментом цитохрома P450 является CYP1A2, CYP2A6, CYP2C8, CYP2C9, CYP3A43, CYP3A5, CYP4A11, CYP4A22, CYP4B1, CYP4F2, CYP5A1, CYP11A1, CYP2BYP2, CYP1A1, CYP11A1, CYP11BYP2, CYP1A2, CYP1A2, CYP1A1, CYP1A2, CYP1A2, CYP1A1, CYP1A1, CYP1A1 CYP2C19, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP2D6, CYP2E1, CYP2F1, CYP2J2, CYP2R1, CYP2S1, CYP2U1, CYP2W1, CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A7, CYP4F11, CYP4F12, CYP4F22, CYP4F3, CYP4F8, CYP4V2, CYP4X1, CYP7A1, CYP7B1, CYP8B1 или CYPF22. В некоторых вариантах осуществления ферментом цитохрома P450 является CYP1A1, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2A6, CYP3A5 или CYP3A7. В некоторых вариантах осуществления ферментом цитохрома P450 является CYP3A4, CYP2C9, CYP2C8, CYP2E1, CYP1A2, CYP2A6, CYP2D6, CYP2B6, CYP2C19, CYP3A5, CYP2J2, CYP1A1 или CYP1B1. В некоторых вариантах осуществления фермент цитохром P450 включает CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9, CYP2B6, CYP3A5 или CYP2A6. В некоторых вариантах осуществления ферментом цитохрома P450 является CYP1A1, CYP1A2, CYP2C8, CYP2E1, CYP2J2 или CYP3A4. В некоторых конкретных вариантах осуществления ферментом цитохрома P450 является CYP2C19. В различных вариантах осуществления генетический профиль содержит информацию о множественных ферментах цитохрома P450. В некоторых вариантах осуществления полиморфизмом является однонуклеотидный полиморфизм.

В вариантах осуществления изобретения полиморфизм приводит к:

i. уровню экспрессии фермента цитохрома P450, который отличается от исходного уровня экспрессии, по меньшей мере, на 10%; и/или

ii. активности фермента цитохрома P450, которая отличается от базовой на, по меньшей мере, 10%.

Уровни экспрессии могут быть измерены с использованием любых подходящих методов, таких как иммуноферментный анализ (ELISA), масс-спектрометрия (МС), количественная ПЦР в реальном времени (РВ-кПЦР), проточная цитометрия, нуклеиновая кислота (т.е. ДНК, РНК и т. д.), секвенирование, аминокислотное (например, пептидное, белковое и т.д.) секвенирование, молекулярная цитогенетическая флуоресцентная гибридизация in situ (FISH) и подобные.

Базовый уровень может быть получен из популяции. «Популяцией» является любая

группа субъектов или выборок с похожими заданными характеристиками. Группировать можно, например, по клиническим параметрам, клиническим оценкам, схемам лечения, статусу заболевания, тяжести состояния и т. д.

В некоторых вариантах осуществления популяция выбирается случайным образом. В некоторых вариантах осуществления популяцией является группа, состоящая из примерно 2, примерно 5, примерно 10, примерно 25, примерно 50, примерно 75 или примерно 100 субъектов. В некоторых вариантах осуществления популяцией является группа, состоящая из примерно 200, примерно 300, примерно 500, примерно 1000, примерно 1500, примерно 2000, примерно 3000, примерно 5000 или примерно 10000 субъектов. В некоторых вариантах осуществления популяцией является группа, состоящая менее чем из примерно 10000 субъектов. В других вариантах осуществления популяцией является группа, состоящая более чем из примерно 10000 субъектов.

В некоторых вариантах осуществления популяцией является группа, у которой нет рака. В вариантах осуществления изобретения у популяции нет гематологического рака. В некоторых вариантах осуществления изобретения у данной популяции нет солидной опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения у популяции нет рака печени.

В некоторых вариантах осуществления популяцией является группа больных раком. В вариантах осуществления изобретения у популяции имеется гематологический рак. В некоторых вариантах осуществления изобретения у популяции имеется солидная опухоль. В некоторых вариантах осуществления у популяции имеется рак печени. В некоторых вариантах осуществления изобретения у популяции имеется рак одного и того же типа.

В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления популяция нечувствительна к ингибитору AXL киназы. В некоторых вариантах осуществления популяция является невосприимчивой после лечения ингибитором AXL киназы. В некоторых вариантах осуществления популяция не переносит лечение ингибитором AXL киназы. В некоторых вариантах осуществления ингибитором AXL киназы является соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат). В некоторых вариантах осуществления ингибитором AXL киназы является соединение структуры (IV) или его фармацевтически приемлемая соль.

В различных вариантах осуществления уровень экспрессии фермента цитохрома P450 превышает базовый уровень экспрессии. В вариантах осуществления изобретения уровень экспрессии фермента цитохрома P450, по меньшей мере, примерно на 10% превышает базовый уровень экспрессии. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии, по меньшей мере, примерно на 1% выше, по меньшей мере, примерно на 2% выше, по меньшей мере, примерно на 3% выше, по меньшей мере, примерно на 4% выше, по меньшей мере, примерно на 5% выше, по меньшей мере, примерно на 7% выше, по меньшей мере, примерно на 12% выше, по меньшей мере, примерно на 15% выше, по меньшей мере, примерно на 17% выше, по меньшей мере, примерно на 20% выше, по

меньшей мере, примерно на 22% выше, по меньшей мере, примерно на 25% выше, по меньшей мере, примерно на 27% выше, как минимум на 30% выше, как минимум на 32% выше, как минимум на 35% выше, как минимум на 37% выше, как минимум на 40% выше, как минимум на 45% выше, как минимум на 50% выше, как минимум примерно на 75% выше или, по меньшей мере, примерно на 90% выше. В некоторых вариантах осуществления ген цитохрома P450 положительно регулирован. «Положительная регуляция» или «положительно регулированный» относится к увеличению присутствия белка и/или увеличению экспрессии его гена.

В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии фермента цитохрома P450 ниже базового уровня экспрессии. В вариантах осуществления изобретения уровень экспрессии фермента цитохрома P450, по нижей мере, на 10% ниже исходного уровня экспрессии. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии, по нижей мере, примерно на 1% ниже, по нижей мере, примерно на 2% ниже, по нижей мере, примерно на 3% ниже, по нижей мере, примерно на 4% ниже, по нижей мере, примерно на 5% ниже, по нижей мере, примерно на 10% ниже, по нижей мере, примерно на 12% ниже, по нижей мере, примерно на 15% ниже, по нижей мере, примерно на 17% ниже, по нижей мере, примерно на 20% ниже, по нижей мере, примерно на 22% ниже, по нижей мере, примерно на 25% ниже, по нижей мере, примерно на 27% ниже, по нижей мере, примерно на 30% ниже, по нижей мере, примерно на 32% ниже, по нижей мере, примерно на 35% ниже, по нижей мере, примерно на 37% ниже, по нижей мере, примерно на 40% ниже, по нижей мере, примерно на 45% ниже, по нижей мере, примерно на 50% ниже, по нижей мере, примерно на 75% ниже или, по нижей мере, примерно на 90% ниже. В некоторых вариантах осуществления гена цитохрома P450 отрицательно регулирована. «Отрицательная регуляция» или «отрицательно отрегулирован» относится к уменьшению присутствия белка и/или снижению экспрессии его гена.

Измерение экспрессии маркеров может быть определено на уровне белка или нуклеиновой кислоты с использованием любого метода, известного в данной области. В некоторых вариантах осуществления маркер определяют при контакте образца с реагентами (например, антителами или праймерами нуклеиновых кислот), создании комплексов реагента и маркера(ов) и определении комплексов. Антитела могут быть конъюгированы с твердой подложкой, подходящей для диагностического анализа, в соответствии с известными методами, такими как пассивное связывание. Антитела могут быть конъюгированы с поверхностноклеточными антигенами для диагностического анализа в соответствии с известными методами, такими как проточная цитометрия, включая многоцветную проточную цитометрию. Антитела могут быть конъюгированы с определяемыми метками или группами, такими как радиоактивные метки, ферментные метки и флуоресцентные метки, в соответствии с известными методами.

Примеры подходящих иммуноанализов включают иммуноблоттинг, иммунопреципитацию, иммунофлуоресценцию, хемилюминесценцию, электрохемилюминесценцию (ЭХЛ) и ELISA. Полодительная или отрицательная

регуляция маркеров также может быть определена с использованием, например, кДНК-чипов, гибридизации клонов, дифференциального отображения, дифференциального скрининга, обнаружения FRET, жидкостных микрочипов, ПЦР, ОТ-ПЦР, секвенирования по Сэнгеру, массово-параллельного (нового поколения) секвенирования, молекулярных маяков, микроэлектрических чипов, чипов олигонуклеотидов, чипов полинуклеотидов, последовательного анализа экспрессии генов (SAGE) и/или вычитающей гибридизации.

Экспрессия может быть определена в образце, взятом у субъекта до лечения. В таких вариантах осуществления уровни экспрессии можно использовать для прогнозирования реакции на конкретное лечение. В некоторых вариантах осуществления уровни экспрессии могут использоваться, по меньшей мере, частично, для определения лечения, вводимого субъекту. В некоторых вариантах осуществления образец может быть взят после того, как субъекту введена доза лечения. В конкретных вариантах осуществления образец берут в день 1 первого цикла лечения, перед введением дозы, через два часа после введения, через шесть часов после введения и через 24 часа после введения дозы. В другом конкретном варианте осуществления образец также берут на 8 день первого курса лечения перед введением дозы. В другом конкретном варианте осуществления образец также берут в день 1 второго курса лечения перед введением дозы. В другом конкретном варианте осуществления образец также берут в день 1 любых дополнительных курсов лечения (например, третьего, четвертого, пятого и т.д.) до введения дозы. В другом конкретном варианте осуществления образец также берут после завершения лечения.

Положительное или отрицательное регулирование можно оценить путем сравнения значения с соответствующим контрольным уровнем. Например, количество одного или нескольких маркеров может быть указано как значение, которое может быть получено, например, путем измерения уровня(ей) маркера(ов) в образце с помощью проведенного анализа. В самом широком смысле значение может быть качественным или количественным. Если определение является качественным, системы и методы обеспечивают считывание или оценку, например оценку того, присутствует ли маркер в анализируемом образце. В еще других вариантах осуществления системы и способы обеспечивают количественное определение того, присутствует ли маркер в анализируемом образце, т.е. определение или оценку фактического количества или относительного содержания маркера в анализируемом образце. В таких вариантах осуществления количественное определение может быть абсолютным или, если метод является методом обнаружения двух или более разных маркеров в образце, относительным. Соответственно, термин «количественная оценка» при использовании в контексте количественной оценки маркера в образце может относиться к абсолютной или относительной количественной оценке. Абсолютная количественная оценка может быть достигнута путем включения известной концентрации (концентраций) одного или нескольких контрольных маркеров и сравнения, например, нормализации, обнаруженного уровня маркера с известными контрольными маркерами (например, посредством

построения стандартной кривой). Альтернативно, относительная количественная оценка может быть выполнена путем сравнения обнаруженных уровней или количеств между двумя или более разными маркерами, чтобы обеспечить относительную количественную оценку каждого из двух или более маркеров, например, относительно друг друга.

В различных вариантах осуществления активность фермента цитохрома P450 превышает базовую активность. Функцию белка можно оценить с помощью соответствующего анализа активности. Примеры анализов активности включают анализы связывания, анализы активности ферментов, включая, например, протеазные анализы, киназные анализы, фосфатазные анализы, редуктазные анализы и т. д.

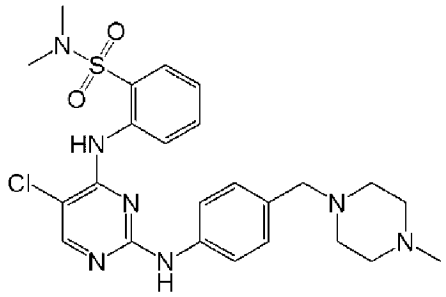
В некоторых вариантах осуществления активность одного или нескольких ферментов цитохрома P450, по меньшей мере, примерно на 10% превышает базовую активность. В некоторых вариантах осуществления активность, по меньшей мере, примерно на 1% выше, по меньшей мере, примерно на 2% выше, по меньшей мере, примерно на 3% выше, по меньшей мере, примерно на 4% выше, по меньшей мере, примерно на 5% выше, по меньшей мере, примерно на 7% выше, при как минимум на 12% выше, как минимум на 15% выше, как минимум на 17% выше, как минимум на 20% выше, как минимум на 22% выше, как минимум на 25% выше, как минимум на 27% выше, как минимум примерно на 30% выше, по меньшей мере, примерно на 32% выше, по меньшей мере, примерно на 35% выше, по меньшей мере, примерно на 37% выше, по меньшей мере, примерно на 40% выше, по меньшей мере, примерно на 45% выше, по меньшей мере, примерно на 50% выше, по меньшей мере, примерно на 75% выше или, по меньшей мере, примерно на 90% выше.

В некоторых вариантах осуществления активность фермента цитохрома P450 ниже базовой активности. В вариантах осуществления изобретения активность фермента цитохрома P450, по нижей мере, примерно на 10% ниже базовой активности. В некоторых вариантах осуществления активность, по нижей мере, примерно на 1% ниже, по нижей мере, примерно на 2% ниже, по нижей мере, примерно на 3% ниже, по нижей мере, примерно на 4% выше, по нижей мере, примерно на 5% выше, по нижей мере, примерно на 7% ниже, по нижей мере, примерно на 12% ниже, по нижей мере, примерно на 15% ниже, по нижей мере, примерно на 17% ниже, по нижей мере, примерно на 20% ниже, по нижей мере, примерно на 22% ниже, по нижей мере, примерно на 25% ниже, по нижей мере, примерно на 27% ниже, по нижей мере, примерно на 30% ниже, по нижей мере, примерно на 32% ниже, по нижей мере, примерно на 35% ниже, по нижей мере, примерно на 37% ниже, по нижей мере, примерно на 40% ниже, по нижей мере, примерно на 45% ниже, по нижей мере, примерно на 50% ниже, по нижей мере, примерно На 75% ниже или по нижей мере, примерно на 90% ниже.

Соответственно, варианты осуществления настоящего раскрытия включают способ выбора схемы лечения для субъекта, нуждающегося в этом, способ, включающий: получение генетического профиля для субъекта, при этом генетический профиль включает полиморфизм в гене, который кодирует фермент цитохрома P450; и выбор

схемы лечения на основе генетического профиля. В некоторых вариантах осуществления схема лечения включает введение эффективного количества терапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления схема лечения включает отказ от терапевтического агента.

В вариантах осуществления изобретения терапевтическим агентом является ингибитор AXL киназы. В некоторых вариантах осуществления вышеизложенного терапевтическим агентом является соединение структуры (I):



(I).

В родственных вариантах осуществления терапевтическим агентом является кислотно-аддитивная соль следующей структуры (I).

В более конкретных вариантах осуществления солью является тартрат.

В вариантах осуществления изобретения терапевтическим агентом является соединение структуры (IV), или его пролекарство, или его фармацевтически приемлемая соль, как описано выше.

Варианты осуществления настоящего раскрытия дополнительно включают способ лечения рака у субъекта, включающий: введение эффективного количества терапевтического агента субъекту, имеющему заранее определенный генетический профиль, включающий полиморфизм в гене, кодирующем фермент цитохрома P450. В вариантах осуществления изобретения полиморфизм приводит к:

i. уровню экспрессии фермента цитохрома P450, который отличается от исходного уровня экспрессии, по меньшей мере, на 10%; и/или

ii. активности фермента цитохрома P450, которая отличается от базовой как минимум на 10%.

В вариантах осуществления изобретения уровень экспрессии фермента цитохрома P450, по меньшей мере, на 10% выше, чем базовый уровень экспрессии. В вариантах осуществления изобретения активность фермента цитохрома P450, по меньшей мере, на 10% выше, чем базовая активность. В вариантах осуществления изобретения уровень экспрессии фермента цитохрома P450, по меньшей мере, на 10% ниже исходного уровня экспрессии. В вариантах осуществления изобретения активность фермента цитохрома P450, по меньшей мере, на 10% ниже базовой активности. В вариантах осуществления изобретения терапевтическим агентом является ингибитор AXL киназы.

В некоторых вариантах осуществления терапевтическим агентом является соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль. В вариантах

осуществления изобретения терапевтическим агентом является фармацевтически приемлемая соль соединения структуры (I). В вариантах осуществления изобретения фармацевтически приемлемой солью соединения структуры (I) является тартрат. В вариантах осуществления изобретения терапевтическим агентом является соединение структуры (IV), или его пролекарство, или фармацевтически приемлемая соль, или композиция, содержащая такое соединение, как описано выше.

В вариантах осуществления настоящего изобретения схема лечения включает превращение приема второго терапевтического агента у субъекта на основе заранее определенного генетического профиля. В некоторых вариантах осуществления вторым терапевтическим агентом является соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль. В вариантах осуществления изобретения фармацевтически приемлемой солью соединения структуры (I) является тартрат. В вариантах осуществления изобретения вторым терапевтическим агентом является соединение структуры (IV), или его пролекарство, или фармацевтически приемлемая соль, или композиция, содержащая такое соединение, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии одного или нескольких ферментов цитохрома P450, по меньшей мере, примерно на 10% превышает базовый уровень экспрессии. В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии, по меньшей мере, примерно на 1% выше, по меньшей мере, примерно на 2% выше, по меньшей мере, примерно на 3% выше, по меньшей мере, примерно на 4% выше, по меньшей мере, примерно на 5% выше, по меньшей мере, примерно на 7% выше, по меньшей мере, примерно на 12% выше, по меньшей мере, примерно на 15% выше, по меньшей мере, примерно на 17% выше, по меньшей мере, примерно на 20% выше, по меньшей мере, примерно на 22% выше, по меньшей мере, примерно на 25% выше, по меньшей мере, примерно на 27% выше, как минимум на 30% выше, как минимум на 32% выше, как минимум на 35% выше, как минимум на 37% выше, как минимум на 40% выше, как минимум на 45% выше, как минимум на 50% выше, как минимум примерно на 75% выше или, по меньшей мере, примерно на 90% выше.

В некоторых вариантах осуществления активность одного или нескольких ферментов цитохрома P450, по меньшей мере, примерно на 10% превышает исходную концентрацию. В некоторых вариантах осуществления активность, по меньшей мере, примерно на 1% выше, по меньшей мере, примерно на 2% выше, по меньшей мере, примерно на 3% выше, по меньшей мере, примерно на 4% выше, по меньшей мере, примерно на 5% выше, по меньшей мере, примерно на 7% выше, при как минимум на 12% выше, как минимум на 15% выше, как минимум на 17% выше, как минимум на 20% выше, как минимум на 22% выше, как минимум на 25% выше, как минимум на 27% выше, как минимум примерно на 30% выше, по меньшей мере, примерно на 32% выше, по меньшей мере, примерно на 35% выше, по меньшей мере, примерно на 37% выше, по меньшей мере, примерно на 40% выше, по меньшей мере, примерно на 45% выше, по меньшей мере, примерно на 50% выше, по меньшей мере, примерно На 75% выше или, по меньшей

мере, примерно на 90% выше.

Базовый уровень может быть получен из популяции. «Популяцией» является любая группа субъектов или выборок с похожими заданными характеристиками. Группировать можно, например, по клиническим параметрам, клиническим оценкам, режимам лечения, статусу заболевания, тяжести состояния и т. д.

В некоторых вариантах осуществления популяция выбирается случайным образом. В некоторых вариантах осуществления популяцией является группа, состоящая из примерно 2, примерно 5, примерно 10, примерно 25, примерно 50, примерно 75 или примерно 100 субъектов. В некоторых вариантах осуществления популяцией является группа, состоящая из примерно 200, примерно 300, примерно 500, примерно 1000, примерно 1500, примерно 2000, примерно 3000, примерно 5000 или примерно 10000 субъектов. В некоторых вариантах осуществления популяцией является группа, состоящая менее чем из примерно 10000 субъектов. В других вариантах осуществления популяцией является группа, состоящая более чем из примерно 10000 субъектов.

В некоторых вариантах осуществления популяцией является группа, у которой нет рака. В вариантах осуществления изобретения у популяции нет гематологического рака. В некоторых вариантах осуществления изобретения у данной популяции нет солидной опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения у населения нет рака печени.

В некоторых вариантах осуществления популяцией является группа больных раком. В вариантах осуществления изобретения популяция имеет гематологический рак. В некоторых вариантах осуществления популяция действительно имеет солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления популяция имеет рак печени. В некоторых вариантах осуществления изобретения популяция имеет рак одного и того же типа.

В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления популяция не чувствительна к ингибитору AXL киназы. В некоторых вариантах осуществления популяция является невосприимчивой после лечения ингибитором AXL киназы. В некоторых вариантах осуществления популяция не переносит лечение ингибитором AXL киназы. В некоторых вариантах осуществления ингибитором AXL киназы является соединение структуры (I) или его фармацевтически приемлемая соль (например, тартрат). В некоторых вариантах осуществления ингибитором AXL киназы является соединение структуры (IV) или его фармацевтически приемлемая соль.

В других вариантах осуществления предлагается способ определения метаболического профиля субъекта, включающий контакт популяции клеток (например, гепатоцитов) субъекта с терапевтическим агентом и определение концентрации первого метаболита, которым является соединение любого из вышеуказанных вариантов осуществления или фармацевтически приемлемая соль любого из вышеуказанных вариантов осуществления.

В более конкретных вариантах осуществления способ дополнительно включает определение концентрации второго метаболита. В некоторых вариантах осуществления

способ дополнительно включает определение уровня экспрессии одного или нескольких ферментов цитохрома P450 в популяции клеток (например, гепатоцитов). В других вариантах осуществления способ дополнительно включает определение активности одного или нескольких ферментов цитохрома P450 в популяции клеток (например, гепатоцитов).

В некоторых из вышеупомянутых вариантов осуществления определение уровня экспрессии или определение активности одного или нескольких ферментов цитохрома P450 проводят на основе концентрации первого метаболита.

В других родственных вариантах осуществления способ дополнительно включает инкубацию популяции клеток (например, гепатоцитов) с терапевтическим агентом. В некоторых вариантах осуществления продолжительность инкубации составляет от примерно 1,5 до примерно 2,5 часов. Например, в некоторых вариантах осуществления инкубация длится около 2 часов. В некоторых конкретных вариантах осуществления продолжительность инкубации составляет от примерно 0,5 до примерно 20 часов, от примерно 0,25 до примерно 10 часов, от примерно 0,15 до примерно 5 часов, от примерно 0,5 до примерно 10 часов, от примерно 0,5 до примерно 5 часов, от примерно 0,5 до примерно 3 часов. от примерно 0,25 до примерно 20 часов, от примерно 0,25 до примерно 5 часов, от примерно 0,25 до примерно 3 часов, от примерно 0,15 до примерно 10 часов или от примерно 0,15 до примерно 3 часов.

В некоторых вариантах осуществления популяция клеток включает гепатоциты, например гепатоциты человека.

В некоторых вариантах осуществления определение концентрации первого метаболита включает выполнение масс-спектрометрического анализа (например, МС, МС/МС, ЖХ-МС, ЖХ-МС/МС). В более конкретных вариантах осуществления масс-спектрометрический анализ включает диссоциацию, активированную столкновениями (ДАС). В некоторых родственных вариантах осуществления определение концентрации первого метаболита дополнительно включает проведение анализа жидкостной хроматографии (ЖХ).

Примеры и препараты, представленные ниже, дополнительно иллюстрируют и являются примерами соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемых солей соединения структуры (I), а также способов получения соли. Следует понимать, что объем настоящего изобретения никоим образом не ограничивается объемом следующих примеров и примеров получения. В следующих примерах и во всем описании и формуле изобретения молекулы с одним стереоцентром, если не указано иное, существуют в виде рацемической смеси. Если не указано иное, молекулы с двумя или более стереоцентрами существуют в виде рацемической смеси диастереомеров. Отдельные энантиомеры/диастереомеры могут быть получены способами, известными специалистам в данной области.

G. ПРИМЕРЫ

Без дальнейшего уточнения считается, что специалист в данной области может,

основываясь на приведенном выше описании, использовать настоящее изобретение в его самом полном объеме. Следовательно, следующие конкретные варианты осуществления должны толковаться как просто иллюстративные и никоим образом не ограничивающие оставшуюся часть раскрытия. Все цитируемые здесь публикации включены в качестве ссылки для целей или объекта изобретения, рассматриваемых здесь.

Примеры и препараты, представленные ниже, дополнительно иллюстрируют и поясняют соединения структуры (I) или фармацевтически приемлемые соли соединения структуры (I) (например, тартрат соединения структуры (I)), а также способы получения такой соли. Следует понимать, что объем настоящего изобретения никоим образом не ограничивается объемом следующих примеров и примеров получения. В следующих примерах и во всем описании и формуле изобретения молекулы с одним стереоцентром, если не указано иное, существуют в виде рацемической смеси. Если не указано иное, молекулы с двумя или более стереоцентрами существуют в виде рацемической смеси диастереомеров. Отдельные энантиомеры/диастереомеры могут быть получены способами, известными специалистам в данной области.

Пример 1: Скриннинг соли

1 мл растворителя добавляли к 25 мкг соединения структуры (I) и 1 эквиваленту желаемой кислоты. В качестве растворителей использовали воду и N-метил-2-пирролидон (NMP). Скриннинг соли проводили на оборудовании Crystal16. Программа позволяет нагревать до 60°C с последующим контролируемым охлаждением до 5°C со скоростью 0,1°C в минуту. Начинали две серии экспериментов с суспензией с использованием воды и дихлорметана в качестве растворителя. Эти экспериментальные смеси перемешивали в течение 3 дней при 20°C. Если применимо, растворитель выпаривали в вакуумной печи для выделения твердых веществ для ПРД и дальнейшего анализа, как показано ниже.

Порошковая рентгеновская дифракция (ПРД)

Исследования порошковой рентгеновской дифракцией проводили с использованием Bruker AXS D2 PHASER в конфигурации Брэгга-Брентано, прибор № 1549. Применяли Cu анод при 30 кВ, 10 мА; стандартное вращение предметного столика; монохроматизацию Kβ-фильтром (0,5% Ni). Щели: фиксированные щели расходимости 1,0 мм (=0,61°), первичная осевая щель Соллера 2,5°, вторичная осевая щель Соллера 2,5°. Детектор: линейный детектор LYNXEYE с приемной щелью 5° отверстия детектора. Стандартный держатель образца (полость 0,1 мм в кремниевой пластине (510)) вносит минимальный вклад в фоновый сигнал.

Условия измерения: диапазон сканирования 5-45° 2θ, вращение образца 5 об/мин, 0,5 с/шаг, 0,010°/шаг, щель детектора 3,0 мм; и все условия измерения записываются в контрольный файл прибора. Что касается пригодности системы, образец корунда A26-B26-S (стандарт NIST) измеряли ежедневно.

Для сбора данных использовали программу Diffrac.Commander v3.3.35. Анализ данных выполняли с помощью Diffrac.Eva V3.0. К шаблонам не применяется коррекция фона или сглаживание. Вклад Cu-Kα2 удаляется с помощью программного обеспечения

Diffrac.Eva.

Термогравитационный анализ/дифференциальная сканирующая калориметрия (ТГА/ДСК)

Исследования ТГА/ДСК проводили с использованием системы Mettler Toledo TGA/DSC1 STARe с 34-позиционным автоматическим пробоотборником, прибор № 1547.

Образцы получали с использованем алюминиевых тиглей (40 мкл, перфорированные). Обычно 5-10 мг образца загружали в предварительно взвешенный алюминиевый тигель и выдерживали при 30°С в течение 5 минут, после чего нагревали со скоростью 10°С/мин от 30°С до 300°С. Над образцом поддерживали продувку азотом 40 мл/мин. При проверке пригодности системы в качестве эталонов использовали индий и цинк.

Для сбора и оценки данных использовали программное обеспечение STARe Software v10.00 build 2480. К термограмме поправок не применяли.

Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК)

Исследования ДСК проводили с использованием системы Mettler Toledo DSC1 STARe, прибор № 1564.

Образцы получали с использованем алюминиевых тиглей (40 мкл, перфорированные). Обычно 1-8 мг образца загружали в предварительно взвешенный алюминиевый тигель и выдерживали при 30°С в течение 5 минут, после чего его нагревали со скоростью 10°С/мин от 30°С до 350°С и выдерживали при 350°С снова. Над образцом поддерживали продувку азотом 40 мл/мин. При проверке пригодности системы в качестве эталонов использовали индий и цинк.

Для сбора и оценки данных использовали программное обеспечение STARe Software v10.00 build 2480. К термограмме поправок не применяли.

Микроскопия

Микроскопические исследования проводили с использованием AxioVert 35M, оборудованного AxioCamERc 5c, прибор № 1612. Микроскоп оборудован четырьмя линзами, а именно Zeiss A-Plan 5x/0,12, Zeiss A-Plan 10x/0,25, LD A-Plan 20x/0,30 и Achros TIGMAT 32x/0,40. Сбор и оценку данных проводили с помощью программного обеспечения Carl Zeiss Zen AxioVision Blue Edition Lite 2011 v1.0.0.0.

Небольшое количество образца помещали на предметное стекло и распределяли до получения тонкого слоя.

Динамическая сорбция пара (ДСП)

Исследования динамической сорбции пара проводили с использованием Surface Measurement Systems Ltd. DVS-1 No Video, прибор № 2126. Образец клали в чашу весов, обычно 20-30 мг, и уравновешивали при 0% ОВ. После высыхания материала ОВ увеличивали на 10% на шаг в течение 1 часа по возрастающей, закончив 95% ОВ. После завершения цикла сорбции образец сушили тем же способом. Для сбора данных использовали программное обеспечение DVSWin v3.01 No Video. Анализ данных выполняли с помощью DVS Standard Analysis Suite v6.3.0 (Standard).

Всего в результате этих экспериментов было получено 16 уникальных дифрактограмм или форм ПРД. Скриннинг соли с водой в качестве растворителя при контролируемом охлаждении на Crystal16 дал 11 уникальных форм, включая формы солей фосфорной кислоты, винной кислоты (т.е. (+)-L-винной кислоты), фумаровой кислоты, яблочной кислоты (т.е. (-)-L-яблочной кислоты), янтарной кислоты, этан-1,5-дисульфоновой кислоты, п-толуолсульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты, бензолсульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты и бензойной кислоты, соответственно. Дополнительные кислоты тестировали с получением соответствующей соли соединения структуры (I). Эти дополнительные кислоты включали хлористоводородную кислоту, серную кислоту, L-аспарагиновую кислоту, малеиновую кислоту, глутаминовую кислоту, лимонную кислоту, D-глюкуроновую кислоту, гликолевую кислоту, D-глюконовую кислоту, L-аскорбиновую кислоту, адипиновую кислоту, нафталин-1,5-дисульфоновую кислоту и нафталин-2-сульфоновую кислоту.

Скриннинг соли с NMP в качестве растворителя при контролируемом охлаждении на Crystal16 дал одну уникальную форму из серной кислоты, с низким выходом и невозможностью получить достаточное количество продукта для дальнейшего анализа.

Эксперименты с суспензией с дихлорметаном в качестве растворителя дали 4 новые формы из малеиновой кислоты, яблочной кислоты, янтарной кислоты и этан-1,5-дисульфоновой кислоты, соответственно. Твердые вещества из продуктов скрининга соли выделяли для анализа ПРД, каждый новый уникальный шаблон анализировали с помощью ДСК-ТГА, микроскопии, FT-IR, ^{1}H ЯМР и ВЭЖХ. В этих исследованиях было обнаружено, что некоторые солевые формы невоспроизводимы, а другие показывают пониженную кристалличность после ДСП.

Пять форм, образованных из фосфорной кислоты, винной кислоты, яблочной кислоты, янтарной кислоты и бензолсульфоновой кислоты, выбирают для масштабных экспериментов, вплоть до 500 мг, для дальнейшего анализа.

После скрининга многочисленных солей соединения структуры (I), тартрат соединения структуры (I) был идентифицирован как подходящая соль соединения для фармацевтического применения. Неожиданно, ФК-исследования показали улучшенную биодоступность тартрата, и измеренные физико-химические свойства показали, что тартрат имеет желаемые физические свойства, включая хорошую стабильность. Смотрите примеры ниже.

Пример 2: Фармакокинетическое тестирование солей

5 солей структуры (I), описанных в примере 1 (т.*е.* образованных из фосфорной кислоты, винной кислоты, яблочной кислоты, янтарной кислоты и бензолсульфоновой кислоты), тестировали для определения их фармакокинетических (ФК) профилей. Самцам крыс Sprague-Dawley натощак вводили пероральный состав каждой соли, а также свободные основания. Концентрацию в плазме крови проверяли через 5 минут, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12 и 24 часа после введения дозы. Средняя концентрация в плазме после ПО введения показана на Фиг. 1. Данные (средние значения) для 5 различных солей и

свободного основания включены в Таблицу 8 ниже.

Таблица 8. Сравнение ФК данных для 5 типовых солей соединения структуры (I).

	Соединение структуры (I)	**Фосфат**	**Тартрат**	**Малат**	**Сукцинат**	**Бензолсульфонат**
Доза (ПО, мг/кг)	18,2	14,3	18,7	18,6	18,7	17,6
C_{max} (нг/мл)	116	103	174	134	79,9	117
T_{max} (часы)	0,833	1,00	0,667	0,500	0,833	0,667
$ППК_{0\text{-}24\ часа}$ (нг•ч/мл)	458	531	581	515	470	408
Биодоступность (%)	26,9	47,2	42,9	37,3	32,9	32,4

Как показывают данные в таблице 8, тартрат неожиданно показал один из лучших общих ФК профилей, имеющий наивысшую C_{max}, наивысшую ППК в течение 0-24 часов и вторую по величине биодоступность. Поскольку соль, полученная из фосфорной кислоты, показала нежелательные характеристики стабильности, оказалось, что тартрат имеет лучший общий профиль в качестве лекарственного вещества.

Пример 3: Фармакокинетическое исследование - свободное основание против тартрата

Натощак самцам крыс Sprague-Dawley вводили свободное основание и тартрат структуры (I) в 20% солютоле. Свободное основание составляли из расчета 5,0 мг/мл (ПО) и вводили через желудочный зонд (18,2 мг/кг). Тартрат структуры (I) составляли в концентрации 6,5 мг/мл чтобы учесть добавленную массу тартратного компонента соли и дозировали через зонд (14,5 мг/кг).

Образцы плазмы отбирали через 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12 и 24 часа после введения дозы и анализировали на концентрацию структуры (I) с помощью ЖХ-МС/МС со ссылкой на предварительно определенную стандартную кривую. Фармакокинетические параметры рассчитывали с использованием некомпартментного подхода с помощью Phoenix WinNonlin 6.3 (Pharsight, Mountain View CA).

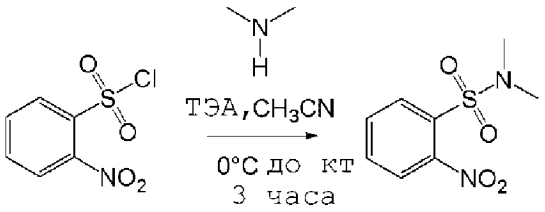
Было замечено, что тартрат превосходит свободное основание, имея более высокий пик биодоступности, чем состав свободного основания (фиг. 2). Эти данные предполагают, что тартрат структуры (I) может быть более полезным in vivo, чем свободное основание. Кроме того, тартрат показывает превосходные параметры C_{max} и ППК (фиг. 2) при сохранении профиля токсичности, эквивалентного свободному основанию при равных дозах. То есть тартрат структуры (I) позволяет получать более высокие уровни лекарственного средства в плазме без дополнительной токсичности. Фармакокинетические данные для тартрата и свободного основания включены в Таблицу

9 ниже (номинальная доза 20 мг/кг).

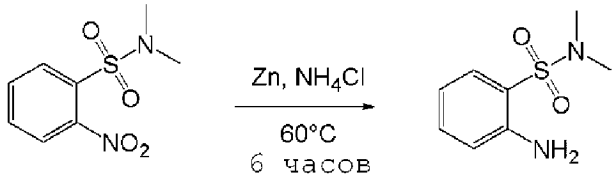
Таблица 9. ФК данные сравнения свободного основания соединения структуры (I) с тартратом.

	Свободное основание	**Тартрат**
Доза (ПО, мг/кг)	18,2	18,7
C_{max} (нг/мл)	116	174
T_{max} (часы)	0,833	0,667
$ППК_{0\text{-}24\ часа}$ (нг•ч/мл)	458	581
Биодоступность (%)	26,9	42,9

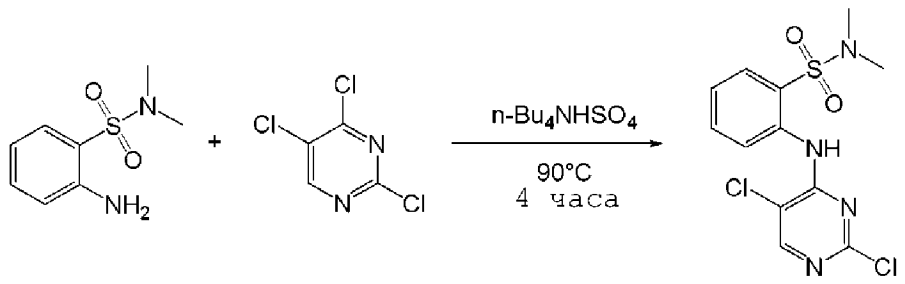
Пример 4: Синтез тартрата структуры (I)



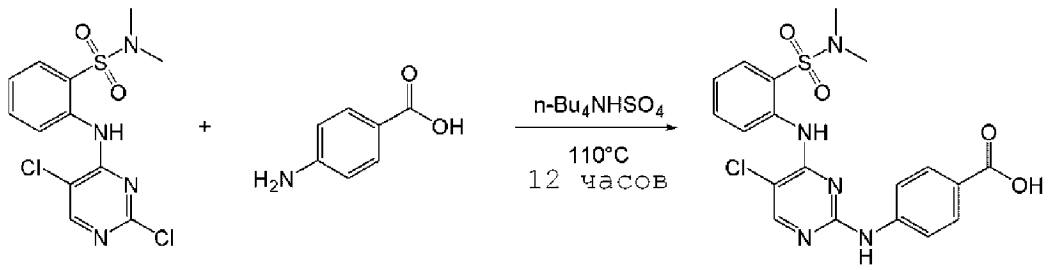
2-нитробензолсульфонилхлорид объединяли с триэтиламином и диметиламином в ацетонитриле в показанных условиях реакции, с получением N, N-диметил-2-нитробензолсульфонамида с выходом 82%.



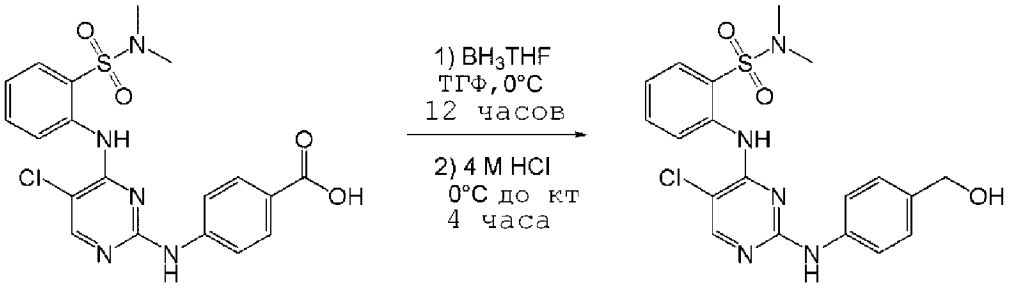
N, N-диметил-2-нитробензолсульфонамид объединяли с цинком и хлоридом аммония в метаноле в показанных условиях реакции, с получением 2-амино-N, N-диметилбензолсульфонамида с выходом 99%.



N, N-диметилбензолсульфонамид объединяли с 2,4,5-трихлорпиримидином и гидросульфатом тетрабутиламмония в показанных условиях реакции, с получением 2-((2,5-дихлорпиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамида с 32% выходом. Характеристики ^{1}H ЯМР показаны на фигуре 103A.

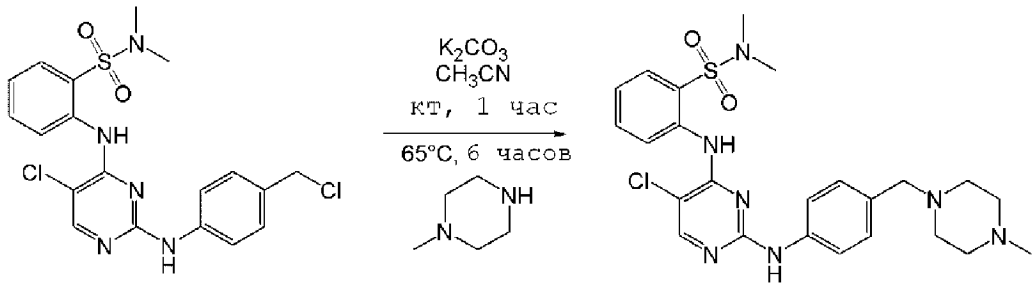


2-((2,5-дихлорпиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамид объединяли с 4-аминобензойной кислотой и гидросульфатом тетрабутиламмония в показанных условиях реакции, с получением 4-((5-хлор-4-((2-(N, N-диметилсульфамоил)фенил)амино)пиримидин-2-ил)амино)бензойной кислоты с выходом 85%. Характеристики ^{1}H ЯМР показаны на фигуре 103B.

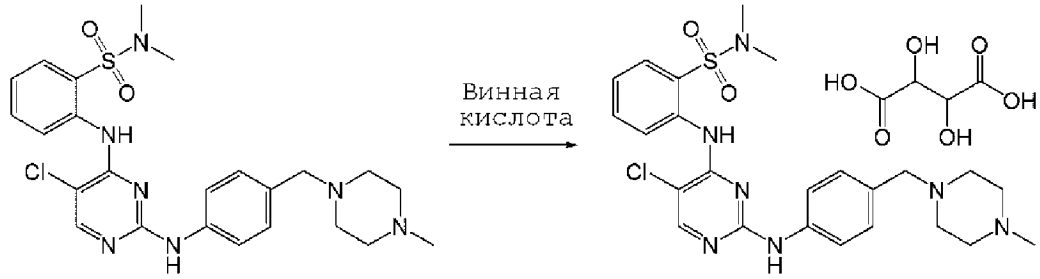


4-((5-хлор-4-((2-(N, N-диметилсульфамоил)фенил)амино)пиримидин-2-ил)амино)бензойную кислоту объединяли с бораном в тетрагидрофуране (1M) в показанных условиях реакции, затем обрабатывали 4M хлористоводородной кислотой в показанных условиях реакции с получением 2-((5-хлор-2-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамида с 80% выходом. Характеристики ^{1}H ЯМР показаны на фигуре 103C.

2-((5-хлор-2-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамид объединяли с тионилхлоридом в дихлорметане в показанных условиях реакции, с получением 2-((5-хлор-2-((4-(хлорметил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамида с 90% выходом. Характеристики ^{1}H ЯМР показаны на фигуре 103D.



2-((5-хлор-2-((4-(хлорметил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамид объединяли с карбонатом калия и 1-метилпиперазином в ацетонитриле в показаных условиях реакции, с получением 2-((5-хлор-2-((4-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамида (т.е. структуры (I) или соединения 1) с 80% выходом.



2-((5-хлор-2-((4-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамид (т.е. структуру (I) или соединение 1) обрабатывали винной кислотой с получением монотартрата 2-((5-хлор-2-((4-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамида.

Пример 5: Определение дозировки и результатов лечения

Группы из множества пациентов (например, 3) лечили соединением структуры (I) или его фармацевтически приемлемой солью (например, тартратом) с использованием повышенных доз до тех пор, пока не будет установлена максимально переносимая доза (МПД) («группа безопасности расширения МПД»). Как правило, при отсутствии ограничивающей дозу токсичности (ОДТ), дозы увеличивали с использованием модифицированной схемы увеличения дозы Фибоначчи.

После установления МПД, дозировки корректировали до средней дозы, вводимой в группе безопасности расширения МПД. Дополнительным группам (например, 5) пациентов с определенными типами опухолей, которые могут быть лечены соединением структуры (I) или его фармацевтически приемлемой солью (например, тартратом), для подтверждения безопасности, исследования биомаркеров и оценки потенциальных сигналов активности соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) вводили конкретным группам пациентов, подвергавшихся интенсивному предварительному лечению (например, пациентам с опухолями, у которых наблюдается прогрессирование, несмотря на иммунотерапию, пациентам с EGFR+ НМКРЛ, у которых имеется прогрессирование при ≤2 линиях ингибиторов

тирозинкиназы, пациентам с колоректальной карциномой с мутацией BRAF, KRAS или NRAS, для которых не применима стандартная терапия, пациентам с устойчивым к лечению/рецидивирующим раком яичников, которые являются или будут резистентными к платине, и пациентам с меланомой с мутацией BRAF, не реагирующим на иммунотерапию или сочетание ингибитора BRAF/MEK) или вводят в сочетании с иммунотерапией или ингибитором тирозинкиназы.

В частности, после подтверждения МПД, однократную суточную дозу соединения структуры (I) или его фармацевтически приемлемой соли (например, тартрата) вводили перорально в дни 1-21 28-дневного курса на основании средней дозы, введенной в группе безопасности расширения МПД.

Результаты лечения могут быть оценены по ограничивающей дозу токсичности и побочным эффектам, возникающим при лечении. Ограничивающая дозу токсичность и побочные эффекты, возникающие при лечении, могут включать фебрильную нейтропению 3 степени или выше, АЧН 4 степени в течение 7 или более дней подряд, тромбоцитопению 4 степени или тромбоцитопению 3 степени с клинически значимым кровотечением или требующим переливания тромбоцитов, не-геатмологические побочные эффекты 3 или 4 степени, включая тошноту, рвоту, диарею и электролитный дисбаланс, сохраняющиеся более 48 часов, несмотря на оптимальное лечение.

Результаты лечения также могут быть оценены путем измерения концентраций в плазме крови, взятой у субъектов перед введением дозы, в 1-й и 21-й день (ФК-параметры, полученные с помощью внекомпартментного анализа). Например, кровь может быть собрана через 0,5, 12, 4, 8, 24 часа после введения дозы в день 1 и через 48 часов после введения дозы в день 21. Концентрация в плазме, рассчитанная с течением времени, может использоваться для определения площади под кривой для времени от 0 до бесконечности, от времени 0 до последней измеренной временной точки, и пика концентрации в плазме. Биомаркеры в опухолевой ткани, МКПК, плазме и сыворотке также оценивали (*например,* с использованием статистики ранговой корреляции Спирмена). МКПК и сыворотку получают до первой дозы на 1-й день и через 2, 6 и 24 часа после введения дозы и снова на 8-й день. Базовую оценку опухоли также проводили и повторяли после 28-дневного курса (т.е. 2 курса и последующих курсов).

Пример 6: Сочетание ингибитора CDK и ингибитора AXL киназы для лечения рака

Клетки DOHH2 (колонию клеток В-клеточной лимфомы) обрабатывали либо одним альвоцидибом, либо сочетанием тартрата соединения структуры (I) в фиксированных концентрациях 1 или 3 нМ и альвоцидиба в концентрациях в интервале от 1 до 1000 нМ в течение 72 часов, как показано на фиг. 3. Концентрации однократных доз тартрата соединения структуры (I) добавляли к различным разведениям альвоцидиба. Жизнеспособность оценивали с помощью CellTiter-Glo в соответствии с протоколом производителя.

Клетки HCT-116 (мутантную колонию клеток колоректального рака KRAS)

обрабатывали либо одним альвоцидибом, либо сочетанием тартрата соединения структуры (I) в фиксированных концентрациях 1 или 3 нМ и альвоцидиба в концентрациях от 0,01 до 100. нМ в течение 72 часов, как показано на фиг. 4 в течение 72 часов. Концентрации однократных доз тартрата соединения структуры (I) добавляли к различным разведениям альвоцидиба. Жизнеспособность оценивали с помощью CellTiter-Glo в соответствии с протоколом производителя.

Данные на фиг. 3 и 4 показывают, что ингибитор CDK, такой как альвоцидиб, действует синергично с ингибитором AXL киназы, таким как тартрат соединения структуры (I), для сильного снижения жизнеспособности раковых клеток.

Пример 7: Повышение количества активных ДК в опухолях после введения ингибитора AXL киназы

Мышей лечили тартратом соединения структуры (I) в концентрации 60 мг/кг. Опухоли анализировали проточной цитометрией для измерения присутствия активных ДК с использованием антитела CD86 и антитела CD11c. Фиг. 5 показывает, что процент активированных ДК в опухолевых клетках увеличивается после обработки ингибитором AXL киназы по сравнению с обработкой отрицательным контролем (носитель).

Пример 8: Сочетание ингибитора AXL киназы и ингибитора контрольной точки PD1/PD-L1 для лечения рака

Мышей лечили только тартратом соединения структуры (I) (60 мг/кг), только антителом PD-L1 (200 мкг) или обоими в сочетании. Объем опухоли измеряли в течение пятнадцати дней после инокуляции.

На фиг. 6A и 6B показано воздействие тартрата соединения структуры (I) в сингрофте 4T1 рака молочной железы у мышей. (Фиг. 6A) Объемы опухоли показаны после обработки тартратом соединения структуры (I) в концентрации 60 мг/кг и/или анти-PD-L1 антителом (200 мкг/мышь/дозу). Комбинированное лечение, по-видимому, имеет наибольший противоопухолевый эффект в этой модели. (Фиг. 6B) Сопоставимые потери массы тела наблюдались для одного агента с использованием тартрата соединения структуры (I) и комбинированного лечения анти-PD-L1 антителом.

Тартрат соединения структуры (I) в качестве единственного агента дает ингибирование роста опухоли (% ИРО) 67,1%, в то время как анти-PD-L1 дает % ИРО 41,5% в этой модели. Сочетание дает % ИРО 87,3% в течение 16-дневной схемы лечения.

% ИРО является объем опухоли для данной группы лечения по сравнению с контрольной группой носителя, то есть (1-(ООлечение/ООноситель))*100. Объем опухоли измеряли в двух измерениях с помощью штангенциркуля, и объем выражали в мм3 по формуле: V = (L x W x W)/2, где V означает объем опухоли, L означает длину опухоли (самое длинное измерение опухоли), а W означает ширину опухоли (самое длинное измерение опухоли перпендикулярно L).

Во второй серии экспериментов мышей лечили только тартратом соединения структуры (I) (25 мг/кг в качестве «низкой дозы» и 40 мг/кг в качестве «высокой» дозы), только анти-PD-1 антителом (10 мг/кг) или обоими в сочетании, с или без радиационной

терапии однократной дозой 12 Гр/животное. Объем опухоли измеряли в течение нескольких дней. На фиг.7 показана эффективность комбинированного лечения на мышиной модели рака молочной железы с аллотрансплантатом (4T1). На фиг. 8 показана эффективность комбинированного лечения на мышиной модели меланомы (B16). На фиг. 9 показана эффективность комбинированного лечения на мышиной модели колоректального рака (CT26). На фиг. 10 показана эффективность комбинированного лечения на мышиной модели рака легкого (легкое Льюиса).

В третьем эксперименте активность тартрата соединения структуры (I) in vivo в качестве единственного агента и сочетаний с блокадой иммунных контрольных точек (анти-PD-1) и радиационной терапией (РТ) оценивали в 4T1 сингенная (аллотрансплантат) модель рака груди у мышей. Тартрат соединения структуры (I) вводили через желудочный зонд ежедневно в дозе 25 мг/кг. Антитело против PD-1 вводили внутрибрюшинно в дозе 10 мг/кг два раза в день. Мышам, получившим дозу облучения, давали однократную дозу 12 ГЙ. Фиг. 11A показывает объемы опухолей, а фиг. 11B показывает массу тела исследуемых животных.

Тартрат соединения структуры (I) в качестве единственного агента дает ингибирование роста опухоли (% ИРО) 28,4%, в то время как анти-PD-1 и РТ по отдельности дают % ИРО 10,2% и 43,7%, соответственно. Однако сочетание всех трех дает % ИРО 57,7% в течение 18-дневного графика лечения.

Также оценивали фармакокинетический профиль тартрата соединения структуры (I) в модели 4T1. На фиг. 114 показан фармакокинетический профиль тартрата соединения структуры (I) в модели 4T1. Мышам, несущим 4T1, вводили 60 мкг/кг тартрата соединения структуры (I) перорально. Опухоль и кровь собирали в указанные моменты времени.

Также оценивали влияние тартрата соединения структуры (I) на цитокины в сыворотке на модели 4T1 (фиг. 115). Мышам Balb/c трансплантировали клетки 4T1 ортотопически. Через 7 дней после трансплантации вводили тартрат соединения структуры (I) (60 мг/кг, перорально, ОРД). Цельную кровь собирали через 2, 6 и 24 часа после последней дозы на 12-й день. Цитокины в сыворотке измеряли с помощью теста Milliplex. Норма указывает на здоровую мышь без опухоли. n=6 (носитель: n=5, норма: n=3). Планка погрешностей показывает СО. НД означает «нет данных».

Пример 9: Сочетание ингибитора AXL киназы и ингибитора EGFR для лечения рака

Используя модель ксенотрансплантата H1650, которая является моделью рака легких с мутацией EGFR, мышей лечили только тартратом соединения структуры (I) (в дозе 12,5 или 25 мг/кг), только ингибитором EGFR (эрлотинибом) (75 мг/кг) или обоими в сочетании. Объем опухоли измеряли в течение нескольких дней. На фиг. 12 показано, что тартрат соединения структуры (I) и ингибитор EGFR обладают синергическим действием на модели рака легких с мутацией EGFR.

Используя модель ксенотрансплантата H1650, мышей обрабатывали только

тартратом соединения структуры (I) (40 мг/кг), только ингибитором EGFR (либо эрлотинибом-HCl в дозе 20 мг/кг, либо осимертинибом в дозе 10, 20 мг/кг или 40 мг/кг), или сочетанием тартрата соединения структуры (I) и ингибиторов EGFR. Объем опухоли измеряли в течение нескольких дней. На Фиг.13 показана эффективность сочетаний тартрата соединения структуры (I) и ингибиторов EGFR.

Пример 10: Ингибирование AXL приводит к обращению мезенхимального фенотипа, повышая чувствительность раковых клеток к таргетным агентам и иммуно-онкологической терапии

Мезенхимальные свойства и эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) способствуют возникновению и прогрессированию многих типов опухолей и, в конечном итоге, могут привести к лекарственной устойчивости и очень агрессивному заболеванию. Было обнаружено, что тартрат соединения структуры (I), мощный ингибитор AXL, приводит к изменению мезенхимального фенотипа во множестве моделей рака. После обработки тартратом соединения структуры (I) изменения в экспрессии мРНК наблюдали с использованием РВ-кПЦР и в экспрессии белка с использованием стандартного иммуноблоттинга, которые согласуются с изменением мезенхимального фенотипа (см., например, фиг. 14 и 15).

На Фиг. 14 показаны уровни белка pAXL и общего AXL. Клетки Panc-1 предварительно обрабатывали 0,1-1 мкМ тартрата соединения структуры (I) в течение 1 часа, затем вызывали фосфорилирование AXL 10-минутной обработкой лизатом апоптических клеток и GAS6. Обработка лизатом и GAS6 приводит к фосфорилированию AXL. Тартрат соединения структуры (I) ингибирует фосфорилирование AXL дозозависимым образом.

На Фиг. 15A и 15B показаны изменения экспрессии маркера EMT после 2 часов обработки тартратом соединения структуры (I). Клетки обрабатывали однократной дозой тартрата соединения структуры (I). Уровни snail (SNAI1) и slug (SNAI2) измеряли с помощью РВ-кПЦР через 2 часа. Зависимое от концентрации ингибирование уровней экспрессии наблюдается в клетках MV4-11 (фиг. 15A) и A549 (фиг. 15B).

При обработке тартратом соединения структуры (I) раковые клетки обладали более низкой подвижностью и снижением «безъякорного» роста, оба которые являются признаками мезенхимальных клеток (см., например, фиг. 16A и фиг. 16B).

На Фиг. 16A и 16B показано действие обработки тартратом соединения структуры (I) на миграцию клеток Panc-1 или Aspc-1. (Фиг. 16A) Действие обработки тартратом соединения структуры (I) на миграцию клеток Panc-1 оценивали с помощью анализа етодом зарастания царапины. Конфлюэнтные клетки царапали, а затем обрабатывали в течение 24 часов GAS6, 0,5 мкМ тартрата соединения структуры (I) или R428. Обработка тартратом соединения структуры (I) снижает миграцию после обработки. (Фиг. 16B) Влияние обработки тартратом соединения структуры (I) на «безъякорную» миграционную способность клеток Aspc-1 в анализе на мягком агаре. Обработка соединением структуры (I) снова снижает миграцию в этом анализе.

In vivo модели устойчивого к эрлотинибу немелкоклеточного рака легкого (НМКРЛ) использовали для демонстрации активности отдельного агента тартрата соединения структуры (I) в высоко мезенхимальных моделяхы. Кроме того, обработка тартратом соединения структуры (I) способна сенсибилизировать эту сильно резистентную модель к эрлотинибу (см., например, фиг. 17 и 18).

На Фиг. 17A и 17B показано лечебное действие тартрата соединения структуры (I) в сочетание с эрлотинибом в модели in vivo ксенотрансплантата рака легких. Клетки A549 вводили подкожно в задний бок бестимусных голых мышей из расчета 1×10^7 клеток/мышь. Когда объем опухоли достигал 100 мм^{3,} мышей произвольно распределяли на группы исследования. Мышам вводили тартрат соединения структуры (I) (75 мг/кг) и/или эрлотиниб (25 мг/кг) по схеме дозирования «два дня прием, два дня отдых». Этот уровень и схема дозирования хорошо переносились животными (фиг. 17B). Комбинированное лечение приводило к сохранению объемов опухоли (фиг. 17A) и было синергетическим по сравнению с лечением любым лекарственным средством в качестве единственного агента.

На Фиг. 18A и 18B показано лечебное действие тартрата соединения структуры (I) в сочетании с эрлотинибом в in vivo модели ксенотрансплантата рака легких. Клетки H1650 вводили подкожно в задний бок бестимусных голых мышей из расчета 1×10^7 клеток/мышь. Когда объем опухоли превысил 100 мм^{3,} мышей произвольно распределяли на группы исследования. Мышам вводили тартрат соединения структуры (I) в концентрации 12,5 или 25 мг/кг и/или эрлотиниб (75 мг/кг) по схеме дозирования «три дня прием, три дня отдых». Этот уровень и режим дозирования хорошо переносились животными (фиг. 18B). Комбинированное лечение приводило к значительному уменьшению объемов опухоли (фиг. 18A) и было синергетическим по сравнению с лечением любым лекарственным средством в качестве единственного агента.

Ингибирование AXL может подавлять связанный с опухолью эфероцитоз, приводя к более сильному иммуногенному ответу на опухоль. Как показано на фиг. 19A и фиг. 19B, лечение тартратом соединения структуры (I) ухудшает AXL-медиированный фагоцитоз апоптотических телец. Провели анализы эфероцитоза, изучающие действие лечения тартратом соединения структуры (I) на клетки THP-1, обработанные сложным эфиром форбола (PMA) (индукция макрофагов). (Фиг. 19A) Клетки THP-1 предварительно обрабатывали тартратом соединения структуры (I) и GAS6 с последующей обработкой флуоресцентно меченным апоптотическим лизатом (обработанным стауроспорином лизатом клеток A549). После 24-часовой инкубации провели проточную цитометрию для оценки способности клеток THP-1 вызывать фагоцитоз апоптотических телеца. (Фиг. 19B) Аналогичный эксперимент проводили с использованием флуоресцентной микроскопии на клетках THP-1. Флуоресцентно меченые апоптотические тельца подсчитывали в прикрепленных клетках THP-1 с использованием программного обеспечения ImageJ на изображениях конфокальной микроскопии (Olympus FV1000).

Кроме того, тартрат соединения структуры (I) продемонстрировал синергизм в

сочетании с анти-PD-L1 агентом, который является ингибитором иммунных контрольных точек, на мышиной модели сингенного трижды негативного рака молочной железы (см., например, пример 8 и Фиг. 6А и 6Б).

Интересно, что во время оценки тартрата соединения структуры (I) на моделях ЭМП было обнаружено резкое изменение экспрессии белка CYP26A1, метаболизирующего ретиноевую кислоту (РК) (см., например, фиг. 20-22), предполагая, что ингибирование AXL приводит к изменениям метаболизма РК.

На Фиг. 20 показаны уровни мРНК CYP26A1 в RA и клетке, обработанной тартратом соединения структуры (I). Клетки обрабатывали 1 мкМ ретинилацетата (РА) и/или тартратом соединения структуры (I) в концентрации 0,5 мкМ. Обработка РА и тартратом соединения структуры (I) вызывала РА-зависимую экспрессию CYP26A1.

На Фиг. 21А и 21В показана экспрессия мРНК CYP26A1 в клетках MV4-11. (Фиг. 21А) Клетки обрабатывали не таргетной или AXL-специфичной миРНК. Затем клетки обрабатывали 1 мкМ ретинилацетата (РА) и тартрата соединения структуры (I). Обработка миРНК AXL вызывала устойчивое увеличение экспрессии CYP26A1 во всех образцах и самое сильное увеличение в образце, обработанном РА. (Фиг. 21В) Иммуноблоттинг подтвердил нокдаун белка посредством миРНК AXL.

На Фиг. 22А и 22В показаны ко-иммунопреципитаты AXL с геном, связанным с импортом РА, Stra6. (Фиг. 22А) Из маленькой панели клеток можно видеть, что AXL высоко экспрессируется в таких клетках, как HCT116 или Panc-1. (Фиг. 22В) Используя колонию клеток HCT116, можно увидеть ко-иммунопреципитацию Stra6 и AXL. Stra6 является первичным импортером клеток РК.

Эти данные предполагают, что AXL вызывает переход к мезенхимальному фенотипу в раковых клетках посредством подавления передачи сигналов РК, и что тартрат соединения структуры (I) может быстро обратить этот фенотип, заставляя клетку вернуться в более дифференцированное состояние. Таким образом, тартрат соединения структуры (I) обладает активностью отдельного агента и комбинированным синергическим действием с таргетными противораковыми агентами и иммунотерапиями.

Таким образом, соединение структуры (I) ингибирует медиированную апоптотической клеткой/GAS6 индукцию фосфорилирования AXL; подавляет экспрессию мезенхимальных генов Snail и Slug; подавляет миграцию клеток рака поджелудочной железы; сочетание соединения структуры (I) и эрлотиниба является активной схемой во множестве моделей ксенотрансплантатов рака легких; соединение структуры (I) ингибирует AXL-медиированный эндоцитоз апоптотических телец (эффероцитоз); сочетание соединения структуры (I) и анти-PD-L1 является активной схемой в модели синграфта рака молочной железы 4T1; и соединение структуры (I) увеличивает индукцию CYP26A1, медиированную РА.

Пример 11: Ингибирование AXL киназы подавляет метаболизм ретиноевой кислоты

Ретиноевую кислоту (РК), метаболит витамина А (ретинол), используют в качестве

монотерапии у пациентов с острым промиелоцитарным лейкозом (ОПЛ), при которой примерно у 90% пациентов достигалась полная ремиссия. Однако ремиссии могут быть временными, и резистентность возникает в течение нескольких месяцев после лечения.

Целью этого примера является определение роли ингибирования AXL как средства восстановления чувствительности к лечению РК. Было высказано предположение, что лечение ингибитором AXL, соединением структуры (I), нарушит метаболизм РК.

После обработки тартратом соединения структуры (I) изменения в экспрессии мРНК анализировали с помощью ОТ-ПЦР, в экспрессии белка с помощью стандартного иммуноблоттинга и уровни эндогенного РА с помощью конкурентного ELISA (см., например, фиг. 23). На Фиг.23 показаны уровни белка pAXL и общего AXL. Клетки A549 предварительно обрабатывали 0,5 мкМ тартрата соединения структуры (I) в течение 1 часа, затем фосфорилирование AXL вызывали 30-минутной обработкой лизатом апоптических клеток и GAS6. Обработка лизатом и GAS6 приводит к фосфорилированию AXL. Этот результат демонстрирует, что соединение структуры (I) ингибирует фосфорилирование AXL.

ОТ-ПЦР использовали для измерения экспрессии мРНК CYP26 в клетках, индуцированных РА и обработанных тартратом соединения структуры (I). После обработки, изменения в экспрессии CYP26 оценивали на уровне белка с помощью стандартных методов вестерн-блоттинга. Уровни эндогенного РА измеряли с помощью конкурентного метода ELISA. Чтобы определить влияние соединения тартрата структуры (I) на рост опухоли в модели in vivo, лечение тартратом соединения структуры (I) испытывали на мышиной модели ксенотрансплантата MV4-11.

Устойчивую индукцию уровней экспрессии мРНК CYP26 наблюдали после обработки 1 мкМ РА в клетках лейкоза MV4-11, она достигала почти 4,3 кратного увеличения после 6 часов обработки (фиг. 30A). Однако обработка клеток тартратом соединения структуры (I) на таких низких уровнях, как 100 нМ, ингибировала РА-медиированную индукцию уровней мРНК CYP26 на 88,9% в клетках MV4-11 через 6 часов (см., например, Фиг.3). Интересно, что введение тартрата соединения структуры (I) также ингибировало базовые уровни мРНК CYP26 на 94,1% через 6 часов (см., например, фиг. 24 и 25).

Изменения ЭМП нервного гребешка после лечения тартратом соединения структуры (I) предполагают РА-зависимую экспрессию гена (CYP26A1). Клетки MV4-11, обработанные однократной дозой тартрата соединения структуры (I), предполагают, что тартрат соединения структуры (I) ингибирует EMT зависимым от передачи сигналов РА образом.

Аналогичные тенденции в экспрессии CYP26A1 наблюдаюи в дополнительных колниях клеток (HL60, A549 и H1650; см., например, фиг. 25 и фиг. 30B), а также с альтернативным ингибитором AXL, R428, хотя только в более высоких концентрациях (см. например, фиг. 26 и 33).

На Фиг. 24 показаны изменения экспрессии CYP26A1 в клетках MV4-11 (верхняя

панель) и HL-60 (нижняя панель), обработанных однократной дозой тартрата соединения структуры (I). Уровни мРНК CYP26A1 измеряли с помощью РВ-кПЦР в нескольких временных точках. Начальное подавление экспрессии CYP26A1 сопровождается повторным увеличением экспрессии CYP26A1, начиная примерно через 24 часа. На фиг. 25 показаны те же эффекты, которые наблюдаются в клетках A549.

На Фиг. 26 показана экспрессия CYP26A1 в клетках, обработанных R428. Клетки MV4-11 обрабатывали однократной дозой R428. Уровни мРНК CYP26A1 измеряли с помощью РВ-кПЦР через 24 часа. Индукция CYP26A1 наблюдалась при лечении R428, хотя величина была не такой большой, как при использовании тартрата соединения структуры (I).

Как показано на фиг. 27, были проанализированы изменения экспрессии CYP26A1 и внутриклеточных уровней РК. Клетки обрабатывали однократной дозой тартрата соединения структуры (I) и ретинилацетата (РА), и клетки собирали через 6 часов. Уровни CYP26A1 измеряли с помощью РВ-кПЦР, а эндогенные уровни РА измеряли с помощью конкурентного ELISA (mybiosource.com). Когда мРНК CYP26 ингибируется обработкой тартратом соединения структуры (I) в концентрации 0,1 мкМ, уровни РК восстанавливаются.

В моменты времени более 24 часов и без повторной обработки тартратом соединения структуры (I) экспрессия CYP26 превышала уровни, наблюдаемые в индуцированных образцах. В клетках, обработанных тартратом соединения структуры (I), наблюдали то, что уровни РК сохранялись в моменты времени, когда экспрессия CYP26 ингибировалась. Тартрат соединения структуры (I) сильно ингибировал объем опухоли до 100% при нескольких уровнях доз и схемах лечения (см., например, фиг. 34A-34D).

На Фиг. 34A и 34B показаны исследования ксенотрансплантата MV4-11; и на фиг. 34C и фиг. 34D показаны исследования ксенотрансплантата A549. Исследования ксенотрансплантатов проводили на бестимусных голых мышах с указанными выше дозами и схемами приема тартрата соединения структуры (I). Мышам давали пищу и воду ad libitum. Показанные дозы не вызывали значительной потери массы тела у леченных животных. Значительное ингибирование роста опухоли наблюдали в обеих исследованных моделях опухолей.

Изменения экспрессии CYP26A1 in vivo показаны на фиг. 35. Бестимусным голым мышам, несущим опухоли MV4-11, ксенотрансплантированные подкожно, давали однократную дозу 180 мг/кг тартрата соединения структуры (I). Опухоли собирали через 6 и 24 часа после обработки. Экспрессия белка CYP26 в опухолях и печени показана в тканях FFPE путем стандартного окрашивания ИГХ с использованием прочного красного хромогена (A). Уровни мРНК CYP26 показаны как для опухоли (B), так и для печени (C).

Анализ экспрессии CYP26 в фиксированных тканях и уровни РК в плазме оценивали для определения действия тартрата соединения структуры (I) на физиологические уровни CYP26 и РК.

Эти наблюдения демонстрируют, что ингибирование AXL киназы тартратом

соединения структуры (I) подавляет CYP26 и нарушает метаболизм РК. Взятые вместе, эти данные указывают на то, что AXL, вероятно, служит подходящей терапевтической мишенью для рассмотрения клеточных реакций, медиирующих резистентность к РК.

В итоге, соединение структуры (I) ингибирует медиированную апоптотической клеткой/GAS6 индукцию фосфорилирования AXL; соединение структуры (I) ингибирует экспрессию мезенхимальных генов Snail и Slug; соединение структуры (I) фенокопирует эффекты ретиноевой кислоты РК-зависимым образом, включая индукцию экспрессии CYP26A1 во множестве колоний клеток; ингибитор AXL, R428, также вызывает экспрессию CYP26A1, хотя и в меньшей степени; медиированное соединением структурой (I) модулирование уровней CYP26A1 соответствует измененным внутриклеточным уровням РК; соединение структуры (I) увеличивает индукцию CYP26A1, медиированную РК; SiRNA AXL также вызывает увеличение CYP26A1; AXL ксовместно осаждается со Stra6 и может служить отрицательным регулятором Stra6; и соединение структуры (I) является активным соединением во множестве моделей ксенотрансплантатов опухоли.

Пример 12: Ингибирование AXL киназы обращает мезенхимальный фенотип в лейкозных клетках

После обработки тартратом соединения структуры (I) изменения в экспрессии мРНК исследовали с помощью ОТ-ПЦР, экспрессию белка измеряли с помощью стандартного иммуноблоттинга, а уровни эндогенной РК измеряли с помощью конкурентного ELISA (см., например, фиг. 28 и 29).

Фиг. 28 показывает, что тартрат соединения структуры (I) влияет на экспрессию множества генов, участвующих в синтезе и метаболизме РК. ПЦР-чип RT2 Profiler (Qiagen) использовали для профилирования изменений экспрессии с РК и/или 0,1 мкМ обработкой тартратом соединения структуры (I). Затронуто множство генов, включая CYP26A1, основной CYP, участвующий в разложении РК.

Фиг. 29 показывает выбранный список генов, которые отвечают на РА и тартрат соединения структуры (I).

Кроме того, влияние тартрата соединения структуры (I) на рост опухоли оценивали на модели in vivo, оценивая эффективность тартрата соединения структуры (I) на мышиной модели ксенотрансплантата MV4-11 (см., например, фиг. 30).

На Фиг. 30A и 30B показана экспрессия мРНК CYP26A1 в клетках MV4-11 (фиг. 30A) и A549 (фиг. 30B). Клетки обрабатывали в течение 6 часов 1 мкМ ретинилацетата (РА) и тартратом соединения структуры (I) в концентрации 0,1 или 0,5 мкМ. Обработка РА и тартратома соединения структуры (I) подавляла индуцированную РА экспрессию CYP26.

Одним из генов, которые были определены как значительно изменившиеся при обработке тартратом соединения структуры (I), был метаболизирующий РК белок CYP26A1 (см., например, фиг. 31 и 32), предполагая, что ингибирование AXL действительно приводит к изменениям метаболизма РК.

Фиг. 31 показывает экспрессию белка CYP26A1 в клетках A549. Клетки обрабатывали в течение 24 часов 1 мкМ ретинилацетата (РА) и тартратом соединения структуры (I) в концентрации 0,1 или 0,5 мкМ. Лечение РА и тартратом соединения структуры (I) ингибирует экспрессию CYP26A1 дозозависимым образом.

На Фиг. 32 показаны изменения в экспрессии CYP26A1 в течение 72 часов при обработке низкими дозами тартрата соединения структуры (I). Клетки обрабатывали ретиноевой кислотой (РК) с/без многократных доз тартрата соединения структуры (I), дведенных через 0, 24 и 48 часов. Уровни CYP26A1 измеряли с помощью ОТ-ПЦР. Экспрессия CYP26A1 быстро индуцируется РК, но ингибируется тартратом соединения структуры (I) как в концентрации 0,1 мкм, так и 0,5 мкм. Повторное дозирование предотвращает повторную экспрессию мРНК CYP26A1, наблюдаемую в предыдущих экспериментах.

Наблюдали сильная индукция экспрессии CYP26 мРНК после лечения РК в лейкозных клетках MV4-11, и это действие также наблюдали при лечении ингибитором AXL, тартратом соединения структуры (I), на таких низких уровнях, как 100 нМ. Активность тартрата соединения структуры (I) также оценивали в дополнительных колониях клеток (HL60, A549 и H1650, см., например, фиг.24), и с альтернативным ингибитором AXL, R428 (см. например, фиг. 33). На фиг. 33 показаны изменения экспрессии CYP26A1 в течение 24 часов для клеток MV4-11, обработанных однократной дозой R428. Уровни мРНК CYP26A1 измеряли с помощью RTPCR через 24 часа. Начальное подавление экспрессии CYP26A1 сопровождается повторным увеличением экспрессии CYP26A1, начиная примерно через 24 часа. Подавление, наблюдаемое с R428, было не таким большим, как с тартратом соединения структуры (I).

Обработка тартратом соединения структуры (I) коррелировала с повышенной экспрессией CYP26 и снижением уровней эндогенной РК. In vivo тартрат соединения структуры (I) сильно ингибировал объемы опухоли ксенотрансплантата до 100% при нескольких уровнях доз и схемах лечения (см., например, фиг. 34A-34D). Экспрессия CYP26 в фиксированных тканях хорошо коррелировала с уровнями мРНК, наблюдаемыми в опухолях ксенотрансплантата после лечения (см., например, фиг. 35-37).

На Фиг. 35-37 показаны изменения в экспрессии CYP26A1 in vivo. Бестимусным голым мышам, несущим опухоль MV4-11, ксенотрансплантированную подкожно, давали однократную дозу 180 мг/кг тартрата соединения структуры (I). Опухоли собирали через 6 и 24 часа после обработки. Экспрессия белка CYP26 в опухолях и печени показана в тканях FFPE с помощью стандартного ИГХ окрашивания с использованием прочного красного хромогена (фиг. 35). Уровни мРНК CYP26 показаны как для опухоли (фиг. 36), так и для печени (фиг. 37).

Взятые вместе, эти наблюдения демонстрируют, что ингибирование AXL киназы тартратом соединения структуры (I) может нарушить метаболизм РК, индуцируя экспрессию CYP26, и это нарушение метаболизма РК приводит к обращению мезенхимального фенотипа в лейкозных клетках.

В итоге, соединение структуры (I) изменяет экспрессию множества генов, участвующих в синтезе, разложении и передаче сигналов РК; соединение структуры (I) сильно ингибирует вызванную ретинилацетатом и ретиноевой кислотой экспрессию расщепляющего РК белка CYP, CYP26, в нескольких колониях клеток; соединение структуры (I) может постоянно подавлять экспрессию CYP26 при повторном дозировании; медиированное соединением структуры (I) снижение CYP26 соответствует более высоким внутриклеточным уровням РК; AXL-специфический ингибитор, R428, вызывает аналогичные эффекты, хотя менее эффективно соединение структуры (I) является активным соединением во множестве моделей ксенотрансплантатов опухоли; соединение структуры (I) может действовать синергетически с ретиноидной терапией, включая ПТРК.

Пример 13: Прогностические и фармакодинамические биомаркеры рака, леченного с помощью ингибитора AXL киназы

Как показано на фиг. 38, уровни GAS6 в сыворотке были измерены в различные моменты времени во время и после лечения тартратом соединения структуры (I) для исследуемых субъектов AG. Уровни GAS6 в сыворотке измеряли в следующие моменты времени: курс 1/день 1 перед дозой («C1D1 PRE») и через 2 и 24 часа после введения дозы («C1D1 2» и «C1D1 24», соответственно) и курс 1/день 8 перед дозой («C1D8 PRE»). Как видно на фиг. 40, уровни AXL и GAS6 в сыворотке крови измеряли в различные моменты времени во время и после лечения тартратом соединения структуры (I) у субъектов исследования B, D, E и G. Уровни AXL и GAS6 в сыворотке крови измеряли в следующие моменты времени: курс 1/день 1 перед дозой («C1D1 PRE») и через 2 и 24 часа после введения дозы («C1D1 2» и «C1D1 24», соответственно) и курс 1/день 8 перед дозой («C1D8 PRE»). Дозировка, вводимая каждому субъекту, показана в правом нижнем углу фигуры.

На Фиг. 37-40 показаны результаты различных иммуногистохимических окрашиваний образцов первичной и вторичной (метастатической) опухоли пациента-человека для оценки маркеров эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), измеренных в различные моменты времени во время прогрессирования заболевания. На фиг. 37 показано иммуноокрашивание AXL в образцах первичной (слева) и вторичной (справа) опухоли от пациентов с раком груди X и Y. На фиг. 38 показано иммуноокрашивание E-кадгерина в образцах первичной (слева) и вторичной (справа) опухоли от пациентов с раком груди X и Y. На фиг. 39 показано иммуноокрашивание N-кадгерина в образцах первичной (слева) и вторичной (справа) опухоли от пациентов с раком груди X и Y. На фиг. 40 показано иммуноокрашивание фосфорилированного AXL («pAXL») в образцах первичной (слева) и вторичный (справа) опухоли от пациентов с раком груди X и Y.

На Фиг. 41 показаны уровни AXL и GAS6 в плазме на двадцатый день (собранные через четыре часа после введения дозы) лечения тартратом соединения структуры (I) в модели ксенотрансплантата колоректального рака, полученного от пациента. Уровни AXL

и GAS6 в плазме снизились после введения тартрата соединения структуры (I) в концентрации 80 мг/кг.

Уровни экспрессии мРНК маркеров эпителиально-мезенхимального перехода измеряли на 20-й день (см. Фиг. 42) и 27-й день (через неделю после последнего приема, см. Фиг. 43) лечения тартратом соединения структуры (I) в модели колоректального рака, полученной от пациента. На 20 день экспрессия Snail была значительно снижена (значение $p \leq 0,05$, парный t-критерий) после введения тартрата соединения структуры (I) в концентрации 80 мг/кг. На 27 день экспрессия GAS6 была значительно увеличена (значение $p \leq 0,05$, парный t-критерий) после обработки либо 40 мг/кг, либо 80 мг/кг тартрата соединения структуры (I).

На Фиг. 44 показаны различия уровней экспрессии мРНК маркеров активированных дендритных клеток (CD86 и CD11c) на 20-й день (верхняя панель) и 27-й день (одна неделя после последнего дозирования, нижняя панель) лечения тартратом соединения структуры (I) в модели колоректального рака, полученной от пациента.

Пример 14: Фаза I/II исследования тартратов соединения структуры (I) у субъектов с ранее леченным ХЛЛ

Это комбинированная Фаза 1/2 исследования тартратов соединения структуры (I), которое вводится перорально субъектам с ранее леченным ХЛЛ/МЛЛ. Как в фазе 1, так и в фазе 2 участников исследования распределяли в одну из двух определенных групп пациентов:

- Группа 1 (монотерапия тартратом соединения структуры (I)): Пациенты с ХЛЛ/МЛЛ, у которых наблюдается непереносимость или у которых было прогрессирование на антагонистах В-клеточных рецепторов и/или антагонистах BCL-2

- Группа 2 (комбинированная терапия тартратом соединения структуры (I) и ибрутинибом): Пациенты с ХЛЛ/СЛЛ, у которых наблюдается прогрессирование на ибрутинибе, но лечащий врач считает, что продолжение терапии ибрутинибом наиболее соответствует интересам пациента.

Обе группы пациентов будут лечить идентично тартратом соединения структуры (I) и они пройдут одинаковую оценку в ходе исследования. Критерии включения пациентов включают общесоматический статус Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) ≤ 2.

Фаза 1

Пациенты будут включены в группу 1 и группу 2 в когорты от 3 до 6 пациентов одновременно. Группа 2 будет начинать с уровня дозы на одну дозу ниже начальной дозы Группы 1. В каждой группе увеличение дозы тартрата соединения структуры (I) будет происходить по стандартной схеме 3+3 с последовательными когортами из трех пациентов, получавших постепенно более высокие дозы тартрата соединения структуры (I) до тех пор, пока не будет наблюдаться ограничивающая дозу токсичность (ОДТ) и не будет установлена максимальная переносимая доза (МПД). В отсутствие ОДТ доза будет увеличена с использованием модифицированной схемы увеличения дозы Фибоначчи.

После определения МПД или предварительного RP2D, расширенная когорта до 6 пациентов будет включена в каждую группу пациентов, чтобы подтвердить безопасность/пригодность предварительного RP2D, собрать дополнительные данные биомаркеров и продолжить изучение эффективности.

Ожидается, что до 27 пациентов будут включены в каждую группу пациентов, всего до 54 пациентов (монотерапия тартратом соединения структуры (I) и комбинированная терапия с ибрутинибом).

Дополнительные уровни доз, схемы или показания по заболеваниям для тартрата соединения структуры (I) могут быть исследованы, при необходимости, на основе модулирования ключевых биомаркеров и профиля безопасности и клинических сигналов активности.

Монотерапия - Группа 1: Тартрат соединения структуры (I) будут вводить в виде фиксированной дозы, основанной на дозе в текущей фазе 1 исследования солидной опухоли на момент начала этого исследования. Предполагается, что доза будет составлять от 33 до 45 мг. Исследуемый препарат будет вводиться перорально один раз в день в течение 28 дней (каждый курс составляет 28 дней; период без приема лекарственных средств). Пациенты могут продолжать принимать тартрат соединения структуры (I) в 28-дневных курсах в той же дозе, что и во время курса 1, до тех пор, пока они не испытают неприемлемую токсичность или однозначное прогрессирование заболевания. Не допускается индивидуальное увеличение дозы тартрата соединения структуры (I).

Комбинированная терапия - Группа 2: Тартрат соединения структуры (I) и комбинированная терапия с ибрутинибом: Начальная доза тартрата соединения структуры (I) будет на один уровень ниже, чем начальная доза Группы 1, вводимая перорально один раз в день в течение 28 дней (каждый курс составляет 28 дней; период без приема лекарственныхо средств). Пациенты также будут получать ибрутиниб в той же дозе, которую они получали непосредственно перед включением в исследование. Пациентам следует продолжить прием сочетания ибрутиниба и тартрата соединения структуры (I) в течение, по меньшей мере, 3 месяцев после начала исследования.

Фаза 2

В Фазе 2 пациенты будут включены в Группу 1 (монотерапия тартратом соединения структуры (I)) и Группу 2 (комбинированная терапия тартратом соединения структуры (I) с ибрутинибом) на основе сценария Simon 2. На стадии 1 в каждую группу пациентов будут включены до 13 пациентов (всего 26 пациентов). Если среди этих 13 пациентов в каждой группе нет ответов, исследование будет остановлено. В противном случае начнут стадию 2 для включения 14 дополнительных пациентов в каждую группу, всего 27 пациентов в группе. Если у 27 пациентов наблюдается 4 или более ответов, можно сделать вывод, что исследуемое лечение заслуживает дальнейшего исследования.

Если обе группы пациентов будут отобраны на стадии 2, ожидается, что общее число участников для стадии 2 составит 54 пациента.

Монотерапия - Группа 1: Начальной дозой тартрата соединения структуры (I)

будет RP2D, определенная на стадии 1. Тартрат соединения структуры (I) вводят перорально в фиксированной дозе один раз в день в течение 28 дней (каждый курс составляет 28 дней; период без приема лекарственного средства) с повторными курсами, разрешенными до тех пор, пока пациент не испытает неприемлемую токсичность или однозначное прогрессирование заболевания.

Комбинированная терапия - Группа 2: Начальной дозой тартрата соединения структуры (I) будет RP2D, определенная на стадии 1. Пациенты также будут получать ибрутиниб в той же дозе, которую они получали непосредственно перед включением в исследование. Как тартрат соединения структуры (I), так и ибрутиниб будут вводиться перорально в фиксированных дозах один раз в день в течение 28 дней (каждый курс составляет 28 дней; период без приема лекарственного средства).

Пример 15: Уровни AXL и GAS6 перед лечением как показатели прогрессирования заболевания

Фазы 1a/1b, впервые проводящегося у человека, открытого исследование повышения дозы, безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики, проводятся для лечения распространенных солидных опухолей с использованием тартрата соединения структуры (I). Соединение вводят один раз в день в течение первых 21 дней из 28. Для фазы 1a (повышение дозы) последовательные когорты из трех (3) пациентов получают повышенные дозы до тех пор, пока не будет установлена МПД. При отсутствии ограничивающей дозу токсичности (ОДТ) дозы увеличивают с использованием модифицированной схемы увеличения дозы Фибоначчи.

Образцы крови собирали до лечения препаратом (исходный уровень) и перерабатывали на сыворотку. Базовые образцы сыворотки анализировали на содержание растворимых AXL и GAS6 с использованием Biotechne (R&D Systems) Ella платформы микрожидкостного ELISA. Субъектов лечили 1,5-28 мг/м^2 тартрата соединения структуры (I) в течение 21 дня подряд с последующим 7-дневным периодом без приема лекарственных средств. Субъектов с документально подтвержденной оценкой заболевания (прогрессирующее заболевание (PD) или стабильное заболевание (SD)) использовали для сравнения исходных уровней анализов. Критерий суммы рангов Уилкоксона использовали для проверки альтернативной гипотезы (PD<SD) как для AXL, так и для GAS6.

На фигурах 45A и 45B показан график белка sAXL, измеренного у пациентов, у которых было PD, в сравнении с SD во время исследования. На Фиг. 45A показаны данные от 17 пациентов (9 пациентов с PD и 8 пациентов с SD), а на фигуре 45B показаны данные от 2 дополнительных пациентов с PD и 1 дополнительного пациента с SD (всего 20 пациентов). Этот результат указывает на то, что пациенты, заболевание которых прогрессировало во время лечения тартратом соединения структуры (I), имели значительно более низкие уровни белка sAXL до лечения по сравнению с пациентами, у которых во время лечения развивалось SD. На фигурах 46A и 46B показан график белка sGAS6, измеренного у пациентов, у которых было PD, в сравнении с SD во время

исследования. На фигуре 46A показаны данные от 17 пациентов (9 пациентов с PD и 8 пациентов с SD), а на фигуре 45B показаны данные от дополнительных 2 пациентов с PD и еще одного пациента с SD (всего 20 пациентов). Этот результат показывает, что пациенты, заболевание которых прогрессировало во время лечения тартратом соединения структуры (I), имели в среднем более низкие уровни белка sGAS6 до лечения по сравнению с пациентами, у которых во время лечения развилось стабильное заболевание. Таким образом, уровень растворимого AXL и GAS6 был повышен на исходном уровне у субъектов, которые продемонстрировали лучший ответ SD по сравнению с PD.

Для исследования расширения фазы 1b пять групп участвовали в схеме фиксированного дозирования. Каждая группа включала 20 пациентов, и у них берут 10 биопсий. Исследуемые группы включают: (1) прогрессирование на иммунотерапии (в сочетании с иммунотерапией): (2) EGFR+ немелкоклеточный рак легкого, прогрессирование после <2 ингибиторов тирозинкиназы (ИТК) (в сочетании с ингибитором ИТК); (3) колоректальный рак с мутацией BRAF/KRAS/NRAS; (4) рак яичников, устойчивый к лечению/рецидивирующий (резистентный к платине/трудно поддающийся лечению); и (5) меланома с мутацией BRAF.

Пример 16: Модулирование иммунного ответа ингибитором AXL киназы

Чтобы оценить действие ингибирования AXL на иммуносупрессивные регуляторные Т-клетки (Treg), индуцированные Treg обрабатывали тартратом соединения структуры (I) и анализировали как жизнеспособность клеток, так и высвобождение цитокинов после обработки. Дифференцировку Treg вызывали из объединенного образца мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК) с использованием набора для дифференцировки Treg клеток человека CellXVivo (R&D Systems) в соответствии с протоколом производителя, и подтверждали дифференцировку с помощью кПЦР для FoxP3 (фиг. 47A). Затем iTreg обрабатывали тартратом соединения структуры (I) в указанных концентрациях (фиг. 47B). iTregs показали EC_{50} жизнеспособности клеток, равную 245 нМ, при обработке тартратом соединения структуры (I). Используя платформу для анализа Luminex, оценивали несколько маркеров Treg после обработки тартратом соединения структуры (I) (фиг. 47C). Наблюдали увеличение множественных маркеров после обработки в концентрациях до 25 мкМ. Чтобы оценить влияние лечения тартратом соединения структуры (I) на инфильтрацию опухолевых иммунных клеток, измеряют наличие сигнатур экспрессии генов, представляющих несколько типов иммунных клеток в моделях опухолей 4T1 сингенного рака молочной железы. Маркеры инфильтрирующих иммунных клеток оценивали как на залитых формалином, так и на свежих тканях с использованием стандартных методов иммуногистохимии и ПЦР в реальном времени. На фиг. 48-54 показаны графические оценки типов иммунных клеток, обнаруженных в образцах, обработанных носителем или 25 мг/кг тартрата соединения структуры (I). На фиг. 48 показаны общие лимфоциты, инфильтрирующие опухоль (TIL), на фиг. 49 показаны дендритные клетки, на фиг. 50 показаны макрофаги, на фиг. 51 показаны нейтрофилы, на фиг. 52 показаны естественные киллеры (NK), на фиг. 53 показаны

регуляторные Т-клетки (Tregs), а на фиг. 54 показаны истощенные CD8 Т-клетки.

Образцы опухолей собирали по окончании исследования. В то время как наблюдали уменьшение общего количества инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL), также наблюдали повышенную инфильтрацию дендритных клеток и сопутствующее снижение иммуносупрессивных Treg. Эти результаты показывают, что иммунный ответ, на который действует тартрат соединения структуры (I), связан с дозозависимым увеличением процента инфильтрирующих опухоль эффекторных CD4+ и CD8+ Т-клеток и усилением терапевтических ответов на ингибиторы иммунных контрольных точек. Кроме того, обработка соединением структуры (I) приводит к увеличению количества активированных дендритных клеток и снижению иммуносупрессивных инфильтрирующих нейтрофилов и регуляторных Т-клеток. Взятые вместе, эти доклинические данные подтверждают потенциальную терапевтическую активность соединения структуры (I) как иммуномодулирующего агента, способного усиливать иммунный ответ опухоли в качестве единственного агента и в сочетании с терапией, направленной на иммунные контрольные точки.

Пример 17: Противоопухолевые эффекты соединения структуры (I)

Противоопухолевые эффекты тартратов соединения структуры (I) были протестированы на нескольких моделях солидных опухолей на мышах. Таблица 10 ниже суммирует % ИРО тартрата соединения структуры (I) в нескольких моделях ксенотрансплантатов у мышей, либо отдельно, либо в сочетании с другими методами лечения.

Таблица 10. Одиночная и комбинированная активность тартрата соединения структуры (I) в нескольких моделях ксенотрансплантатов

Модель	**Активность [% ИРО (уровень дозы)]**
Колоректальный рак с мутацией KRAS (HCT-116)	98,8 (90 мг/кг)
Колоректальный рак PDX	65,3 (80 мг/кг)
Острый миелоидный лейкоз (MV-4-11)	108,0 (80 мг/кг)
Рак легких (A549)	111,1 (80 мг/кг)
Рак легкого (A549, сочетание с эрлотинибом)	88,0 (75 мг/кг)
Рак легкого (H1650, сочетание с эрлотинибом)	139,3 (25 мг/кг)
Рак легкого (H1650, сочетание с осимертинибом)	130,3 (40 мг/кг)

Пример 18: Иммуно-онкологические эффекты соединения структуры (I) в модели сингенного рака груди

В этом исследовании тартраты соединения структуры (I) оценивали в сочетании с

ингибитором иммунных контрольных точек (ИИКТ) на модели трижды негативного рака груди на мышах (4T1), устойчивых к ИИКТ. В сингенной модели 4T1 монотерапия анти-PD-1 не подавляла рост опухоли, указывая на то, что эта опухоль устойчива к лечению анти-PD-1, как показано на фиг. 55. С другой стороны, сочетание тартрата соединения структуры (I) и анти-PD-1 дает статистически значимое ингибирование роста опухоли по сравнению с монотерапией тартратом соединения структуры (I) ($p<0,05$). На комбинированное действие влияет потенциальное истощение CD8+ Т-клеток (см. Фиг. 56A и фиг. 56B). Однако действие тартрата соединения структуры (I) было дополнительно исследовано на иммунные клетки в селезенке и опухолях, и показало, что ингибирование роста опухоли было связано со значительным снижением количества миелоидных супрессорных клеток (МДСК) в селезенке. (см. фиг. 57), а также усилением инфильтрации и активации дендритных клеток (ДК) в опухоли (см. фиг. 58A и 58B). Анализ экспрессии генов показал, что обработка тартратом соединения структуры (I) снижает множественные иммуносупрессивные цитокины и хемокины, включая IL-6 и G-CSF, in vivo (см. Фиг. 59 и фиг. 60). Эти результаты показывают, что соединение структуры (I) модулирует иммуносупрессивную микросреду опухоли (МСО), чтобы активизировать Т-клеточный иммунитет в опухолях 4T1, устойчивых к анти-PD-1. В заключение следует отметить, что ингибирование AXL соединением структуры (I) модулирует МСО и усиливает эффекты ИИКТ в модели опухоли у мышей, устойчивой к PD-1.

Пример 19: Соединение структуры (I) активно в доклинических моделях EGFR-положительного немелкоклеточного рака легкого

Была выдвинута гипотеза, что обработка тартратом соединения структуры (I) может усиливать лечение EGFRi при раке, и в частности, НМКРЛ с мутацией EGFR. Чтобы исследовать эту гипотезу, клетки обрабатывали тартратом соединения структуры (I), и жизнеспособность клеток оценивали с помощью теста Celltiter-Glo, изменения экспрессии мРНК анализировали с помощью РВ-кПЦР, а изменения экспрессии белка анализировали с помощью стандартного иммуноблоттинга.

На Фиг. 110A-110B показана экспрессия маркера EMT в клетках НМКРЛ, обработанных соединением структуры (I). Клетки H1650 (фиг. 110A) и A549 (фиг. 110B) обрабатывали в течение двух часов тартратом соединения структуры (I) в концентрациях до 2 мкМ, после чего экспрессию мРНК snail и slug оценивали с помощью стандартной методики кПЦР.

На Фиг. 111A-111B показана экспрессия маркерного белка EMT в обработанных ингибитором AXL клетках H1650 и A549. Клетки H1650 обрабатывали 0,1, 0,5 или 1,0 мкМ тартрата соединения структуры (I) или R428 в течение 24 часов, после чего клетки собирали и экспрессию E-кадгерина и белка snail оценивали с помощью стандартной методики вестерн-иммуноблоттинга (фиг. 111A). Клетки A549 обрабатывали 0,1, 0,5 или 1,0 мкМ тартрата соединения структуры (I) или R428 в течение 24 часов, после чего клетки собирали и оценивали экспрессию E-кадгерина и белка snail, используя стандартную методику вестерн-иммуноблоттинга. (Фиг. 111B).

В анализах мРНК и белка наблюдаемые изменения соответствовали изменению мезенхимального фенотипа. После лечения экспрессия мРНК Slug подавлялась в 3,8 раза. Однако экспрессия Е-кадгерина увеличилась в 1,6 раза.

Для оценки сочетания in vivo использовали модель ксенотрансплантата H1650 для НМКРЛ. При фармакодинамической оценке маркеров ЭМП in vivo наблюдали снижение экспрессии белка Snail на 56% после однократной дозы тартрата соединения структуры (I) (40 мг/кг, через 24 часа). На фиг. 112 показана экспрессия мРНК Slug в обработанной тартратом соединения структуры (I) ксенотрансплантате H1650 у мышей. Мышей, несущих опухоль с ксенотрансплантатом H1650, лечили тартратом соединения структуры (I) (40 мг/кг) через желудочный зонд, после чего опухоли собирали в различные моменты времени после введения дозы. Экспрессию мРНК Slug и Е-кадгерина оценивали стандартным методом кПЦР. На фиг. 113 показана экспрессия белка snail у мышей с ксенотрансплантатом H1650, леченных соединением структуры (I). Мышей, несущих ксенотрансплантат опухоли H1650, лечили тартратом соединения структуры (I) (40 мг/кг) через желудочный зонд, после чего опухоли собирали в различные моменты времени после введения дозы. Экспрессию slug и белка Е-кадгерина оценивали стандартным методом иммуноблоттинга.

В анализах жизнеспособности клеток в колонии клеток H1650 НМКРЛ, тартрат соединения структуры (I) показал EC_{50}, равную 39 нМ, тогда как осимертиниб показал EC_{50}, равную 2,2 мкМ. На фиг. 18C и 18D показан тартрат соединения структуры (I) и активность EGFRi в колонии клеток H1650 НМКРЛ. Клетки H1650 инкубировали в присутствии указанных лекарственных средств в течение 72 часов, после чего жизнеспособность клеток оценивали с использованием реагента CellTiter-Glo в соответствии с протоколом производителя. Клетки H1650, обработанные отдельными агентами (IC_{50}): тартратом соединения структуры (I) (35,9 нМ), эрлотинибом (9,9 мкМ) или осимертинибом (2,2 мкМ) (фиг. 18C). Клетки H1650 также обрабатывали сочетаниями тартрата соединения структуры (I) и эрлотиниба (фиг. 18D).

При оценке эффективности лечения in vivo и при лечении тартратом соединения структуры (I) (40 мг/кг, орд) наблюдали 60% ингибирование роста опухоли (% ИРО) в течение 21-дневного курса лечения. На Фиг. 18E и фиг. 18F также показана комбинированная активность тартрата соединения структуры (I) и эрлотиниба в модели ксенотрансплантата H1650. Мышам, несущим ксенотрансплантат опухоли H1650, ежедневно вводили через желудочный зонд либо тартрат соединения структуры (I) (40 мг/кг), либо эрлотиниб (20 мг/кг), либо их сочетание. Объем опухолей и массу тела оценивали дважды в неделю.

При лечении осимертинибом (20 мг/кг, орд) наблюдали 121% ИРО. Однако для сочетания наблюдали 140% ИРО. На Фиг. 18G и фиг. 18H показана комбинированная активность тартрата соединения структуры (I) и осимертиниба в модели ксенотрансплантата H1650. Мышам, несущим ксенотрансплантат опухоли H1650, ежедневно вводили через желудочный зонд либо тартрат соединения структуры (I) (40

мг/кг), либо осимертиниб (20 мг/кг), либо их сочетание. Объем опухолей и массу тела оценивали дважды в неделю. Благодаря своей способности обращать вспять агрессивный мезенхимальный фенотип раковых клеток, соединение структуры (I) является многообещающим агентом с потенциалом для проявления активности отдельного агента и комбинированного синергизма с целевыми противораковыми агентами.

Пример 20: Соединение структуры (I) демонстрирует эффективность в доклинических моделях колоректального рака независимо от статуса мутации KRAS

Тартраты соли соединения структуры (I) оценивают на активность против колоректального рака (КРК). В анализах жизнеспособности колоний клеток КРК обработка тартратом соединения структуры (I) дает значения IC_{50} в интервале от 4,5 до 123 нМ. Примечательно, что ингибирование роста клеток после обработки тартратом соединения структуры (I) не зависело от статуса мутации KRAS; мутантная линия KRAS HCT-116 была наиболее чувствительной линией клеток КРК. На Фиг. 104A показан статус мутации KRAS выбранных клеточных линий КРК. На фигуре 104B показано определение жизнеспособности клеток КРК после 72-часовой обработки тартратом соединения структуры (I) и оценка с помощью CellTiter-Glo.

Мезенхимальные маркеры, включая Snail, подавлялись в 7,6 раза (мРНК) и 4,9 раза (белок) в колонии HCT-116 при 500 нМ. Например, фиг. 105A и фиг. 105B показывают, что тартрат соединения структуры (I) подавляет мезенхимальные маркеры без модулирования эпителиальных маркеров. Клетки HCT-116 обрабатывали указанными концентрациями ингибиторов AXL: R428, RXDX-106 и тартратом соединения структуры (I) в течение 24 часов. На фиг. 105A показано, что уровни экспрессии мРНК были определены количественно с помощью РВ-кПЦР. На Фиг. 105B показано, что уровни экспрессии белка анализировали с помощью вестерн-блоттинга. Экспрессия snail подавлялась в 7,6 раз (м-РНК) и в 4,9 раза (белок) с помощью 500 нМ тартрата соединения структуры (I).

Активность тартрата соединения структуры (I) также оценивали in vivo с использованием двух моделей КРК мутантного KRAS: моделях HCT-116 и ксенотрансплантата (PDX), полученного от пациента. В модели ксенотрансплантата HCT-116 обработка только тартратом соединения структуры (I) давала 69% ингибирование роста опухоли (% ИРО) при пероральном режиме дозирования 40 мг/кг. Безтимусным голым мышам вводили в задний бок 10 миллионов клеток и разделяли на группы по 10 мышей. Соединения готовили в 5% (масс./об.) TPGS и 1% (об./об.) PS80 в H_2O и вводили через желудочный зонд. Объем опухолей (фиг. 106A) и вес тела измеряли дважды в неделю (фиг. 106B). Внутриопухолевую экспрессию GAS6 количественно оценивали с помощью РВ-кПЦР. Когорта 40 мг/кг тартрата соединения структуры (I) достигла 69% ИРО без побочных эффектов (фиг. 106C).

В модели PDX с KRAS-мутантом тартрат соединения структуры (I) давал 44% ИРО, при введении мышам дозы 40 мг/кг. Бестимусным мышам Balb/c имплантировали 2-3-миллиметровые фрагменты первичных опухолей КРК человека и затем делили на

когорты по 10 мышей. Тартрат соединения структуры (I) готовили в 5% (масс./об.) TPGS и 1% (об./об.) PS80 в H_2O и вводили через желудочный зонд. Объем опухоли (фиг. 107A) и массу тела (фиг. 107B) измеряли дважды в неделю. Когорта с 40 мг/кг тартрата соединения структуры (I) достигла 44% ИРО без побочных эффектов.

Фармакодинамические анализы были выполнены на тканях из моделей HCT-116 и PDX. Лиганд для AXL, GAS6, значительно усиливался в тканях после обработки тартратом соединения структуры (I) в обеих моделях КРК in vivo, в то время как растворимые AXL и GAS6 были значительно подавлены в плазме в модели PDX. Кроме того, Axin2, ген, регулируемый Wnt/β-катенином, значительно подавлялся соединением структуры (I) в опухолевой ткани из модели PDX, что свидетельствует об ингибировании пути Wnt/β-катенин. Эти данные подтверждают потенциальную роль AXL в стимулировании мезенхимального фенотипа при КРК и показывают, что ингибирование AXL тартратом соединения структуры (I) подавляет мезенхимальный фенотип и эффективно против клеток КРК независимо от статуса мутации KRAS.

Фиг. 108A-108E показывают, что тартрат соединения структуры (I) подавляет концентрации sAXL/sGAS6, одновременно отрицательно регулируя регулируемые Wnt/β-катенином гены Axin2/CCND1 в модели PDX КРК с мутацией KRAS. sAXL (фиг. 108A) и sGAS6 (фиг. 108B) были количественно определены в сыворотке с помощью ELISA. Внутриопухолевые GAS6 (фиг. 108C), Axin2 (фиг. 108D) и CCND1 (фиг. 108E) были количественно определены с помощью РВ-кПЦР. Анализы проводились на мышах, получавших лечение в течение 27 дней (кроме Axin2; 21 день). Подавление sAXL и sGAS6 указывает на изменение ЭМП. Медиированная соединением структуры (I) отрицательная регуляция генов, связанных с Wnt/β-катенином, дополнительно подтверждает ранее описанную роль AXL в стабилизации β-катенина.

Фиг. 109 показывает положительную корреляцию между sAXL/sGAS6 и объемом опухоли в модели PDX КРК с мутацией KRAS, что идентифицирует их как потенциальные биомаркеры прогрессирования заболевания. Концентрации растворимых веществ определяли количественно в сыворотке каждой мыши с помощью ELISA с последующим линейным регрессионным анализом. Статистическая значимость для каждой корреляции: sAXL и объем опухоли ($P<0,005$); sGAS6 и объем опухоли ($P<0,0005$).

Пример 21: Противоопухолевое действие соединения структуры (I) на воспалительный рак молочной железы

Тартраты соединения структуры (I) оценивают на активность против воспалительного рака молочной железы в культуре клеток и на модели ксенотрансплантата.

Активность тартрата соединения структуры (I) оценивали в колониях клеток воспалительного рака молочной железы. Жизнеспособность клеток оценивали (например, с помощью теста CellTiter Glo) в интервале доз и определяли значение IC_{50}. Примеры колоний клеток воспалительного рака молочной железы, которые можно использовать,

включают SUM149, KPL-4 и SUM190.

Действие тартрата соединения структуры (I) оценивали на модели ксенотрансплантата воспалительного рака молочной железы. Пример модели ксенотрансплантата воспалительного рака молочной железы описан в Wang et al., 2013 Cancer Research 73 (21):6516-6525. Безтимусным мышам BALB/c nu/nu вводили в жировые подушечки молочной железы клетки SUM149 (2×10^6 клеток с 50% матригелем) и устанавливали опухоли. Мышей обрабатывали тартратом соединения структуры (I) или контрольным носителем в течение, по меньшей мере, двух недель. В процессе лечения контролировали объем опухоли и массу тела.

Пример 22: Полиморфы тартратных солей соединения структуры (I)

Полиморфы по настоящему раскрытию могут быть получены с учетом новых способов, схем реакций и примеров, представленных в данном документе *(см.*, например, пример 23), вместе со способами синтеза, известными в области синтетической органической химии, или их вариациями, как понятно специалистам в данной области. Реакции проводят в растворителе или смеси растворителей, подходящих для используемых реагентов и материалов и подходящих для осуществляемых превращений. Специалистам в области органического синтеза будет понятно, что функциональность, присутствующая в молекуле, должна соответствовать предлагаемым превращениям. Иногда это потребует решения изменить порядок стадий синтеза или выбрать одну конкретную схему процесса по сравнению с другой, чтобы получить желаемое соединение или полиморф согласно раскрытию.

Исходные материалы обычно доступны из коммерческих источников, таких как Sigma Aldrich или от других коммерческих поставщиков, или их получают, как описано в этом раскрытии, или их легко получают с использованием способов, хорошо известных специалистам в данной области (например, получают способами, обычно описанными в Louis F. Fieser and Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, v. 1-19, Wiley, New York (1967-1999 ed.), Larock, R.C., Comprehensive Organic Transformations, 2nd-ed., Wiley-VCH Weinheim, Germany (1999), или Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlin, включая дополнения (также доступные через электронную базу данных Beilstein)).

При получении полиморфов соединения структуры (I) может потребоваться защита удаленных функциональных групп промежуточных соединений. Потребность в такой защите будет варьироваться в зависимости от природы удаленной функциональной группы и условий способов получения. Необходимость в такой защите легко определяется специалистом в данной области. Общее описание защитных групп и их использования представлено в Greene, TW et al., Protecting Groups in Organic Synthesis, 4th Ed., Wiley (2007).

Кроме того, полиморфы настоящего описания проявляют ценные фармакологические свойства, которые могут быть продемонстрированы, по меньшей мере, с использованием любой из следующих процедур тестирования. Соответственно,

полиморфы настоящего раскрытия оценивали в биохимических анализах, как изложено ниже. Данные были получены в соответствии с параметрами, перечисленными ниже:

Порошковая рентгеновская дифракция (ПРД):

Инструмент PANalytical XPRD. Твердый образец распределяли на держателе образца с нулевым фоном Si. Используемые параметры ПРД перечислены ниже в таблице 11:

Таблица 11. Уставки для получения данных ПРД

Параметр	**Значение для сбора данных**
Длина волны рентгеновского излучения	Cu, kα Kα1 (Å): 1,540598 Kα2:(Å): 1,544426 Отношение интенсивностей Kα2/Kα1: 0,50
Уставка рентгеновской трубки	45 кВ, 40 мА
Щель расходимости	1/8°
Режим сканирования	непрерывный
Диапазон сканирования (°2θ)	3°-40°
Размер шага (°2θ)	0,263
Время шага сканирования (с)	50
Время тестирования (с)	~5 минут 4 секунды

ТГА и ДСК:

Данные ТГА собирали с использованием TA 5500 TGA от TA Instruments, а ДСК выполняли с использованием TA 2500 DSC от TA Instruments. Подробные используемые параметры перечислены в Таблице 12 ниже.

Таблица 12. Уставки прибора для получения данных ТГА и ДСК

Параметры	**ТГА**	**ДСК**
Метод	Линейный	Линейный
Кювета для образца	Алюминиевая, открытая	Алюминиевая, гофрированная
Температура	КТ - желаемая температура	25°С - желаемая температура
Скорость нагревания	10°С/мин	10°С/мин
Продувочный газ	N_2	N_2

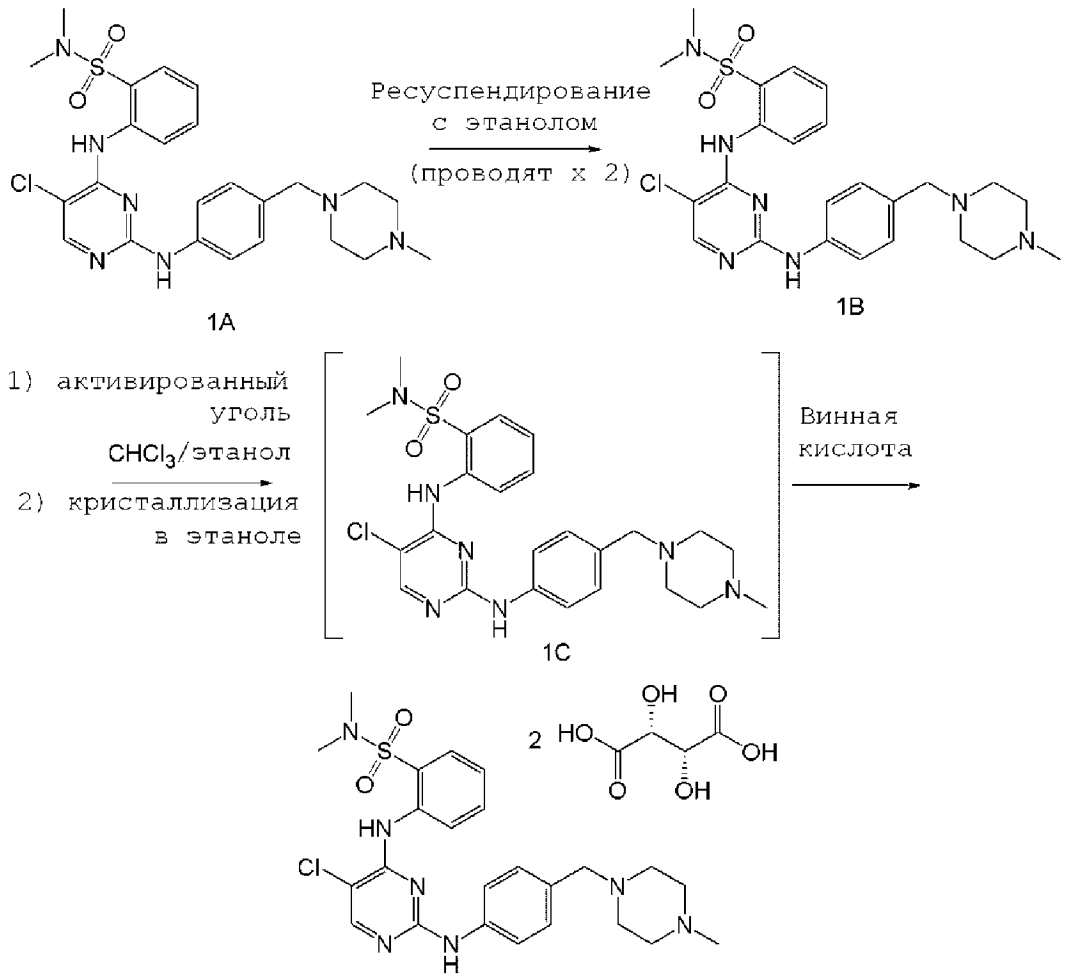
ВЭЖХ:

Использовали Agilent 1260 HPLC, и подробные условия хроматографии для измерения чистоты и растворимости перечислены в таблице 13 ниже.

Таблица 13. Уставки ВЭЖХ для сбора данных

Параметры	**Значение**	
ВЭЖХ	Agilent 1260 с детектором DAD	
Колонка	Ascentis Express C18, 4,6 мм × 100 мм, 2,7 мкм	
Подвижная фаза	A: 0,1% H_3PO_4 в H_2O	
	B: ацетонитрил	
Таблица градиентов	**Время (мин)**	**% B**
	0,0	10
	6,0	95
	8,0	95
	8,1	10
	10,0	10
Время прогона	10,0 мин.	
Время перерыва	0,0 мин	
Скорость потока	1,5 мл/мин	
Объем впрыска	10 мкл	
Длина волны детектора	УФ при 210 нм	
Температура колонки	40°C	
Температура пробоотборника	окружающей среды	
Разбавитель	ацетонитрил:H_2O (1:1, об./об.)	

Пример 23: Получение кристаллической формы A



Соединение 1A получили в соответствии со способами, известными в данной области, и оно соответствовало спецификациям чистоты, однако анализ ^{1}H-ЯМР показал, что продукт содержал около 30% триэтиламина, который был использован на предыдущей стадии синтеза. Заявитель обнаружил, что ресуспендирование суспензии в горячем этаноле эффективно удаляет триэтиламин. Стадию ресуспендирования проводили следующим образом:

Смесь 1A и этанола нагревали при 70°C в течение 2 часов и затем медленно охлаждали до 20°C в течение 5 часов. Суспензию фильтровали и сушили в вакууме, получая очищенное соединение 1B. Этот изолированный кристалл подвергали повторной обработке для получения 1C.

Повторная обработки включала растворение 1C в смеси хлороформа и этанола и добавление активированного угля. Полученную суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа и фильтровали. Отфильтрованное твердое вещество промывали, объединяли с фильтратом и растворители удаляли дистилляцией. Затем добавляли этанол и повторяли дистилляцию для удаления хлороформа. После дистилляции полученную суспензию охлаждали и фильтровали, получая очищенное соединение 1C. Полученный продукт растворяли в смеси анизола и этанола при 70°C. Затем к этому раствору добавляли раствор винной кислоты в этаноле и затем засевали

формой А. Полученную суспензию охлаждали до 20°С и фильтровали, промывали этанолом, сушили с получением полиморфа соли винной кислоты соединения структуры (I). Чистота желаемого продукта составила 99,5% по данным ВЭЖХ.

^{1}Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ=9,56 (с, 1Н), 9,33 (с, 1Н), 8,58 (с, J=8,0 Гц, 1Н), 8,29 (с, 1Н), 7,83 (дд, J=8,0, 1,6 Гц, 1Н), 7,71 (тд, J=7,2, 1,4 Гц), 7,57 (д, J=8,4 Гц, 2Н), 7,38 (тд, J=7,2 Гц, J=1,0 Гц), 7,18 (д, J=8,4 Гц, 2Н), 4,19 (с, 4Н), 3,51 (с, 2Н), 2,86 (шс, 3Н), 2,65 (с, 6Н), 2,60-2,50 (м, 8Н)

Сигналы протона при 4,19 и 3,51 ч./млн. соответствуют винной кислоте. На основании объединения этих пиков соотношение винной кислоты к соединению структуры (I) постоянно составляло 2:1.

Пример 23А: Получение кристаллической формы А

2-((5-хлор-2-((4-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамид (5 г, 9,69 ммоль) растворяли в анизоле (75 г) и EtOH (30 г) при 70°С. К смеси добавляли винную кислоту (2,91 г, 19,38 ммоль), растворенную в EtOH (30 г), в течение 1 ч, затем к раствору добавляли небольшое количество затравочных кристаллов*, чтобы инициировать осаждение. Смесь перемешивали в течение 1 часа и охлаждали до 20°С в течение 5 часов. Твердое вещество собирали фильтрованием, промывали EtOH и сушили с получением дитартрата 2-((5-хлор-2-((4-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамида в виде белого твердого вещества (7,35 г, 9,01 ммоль).

Чистота желаемого продукта составила 99,5% по данным ВЭЖХ.

^{1}Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ=9,56 (с, 1Н), 9,33 (с, 1Н), 8,58 (с, J=8,0 Гц, 1Н), 8,29 (с, 1Н), 7,83 (дд, J=8,0, 1,6 Гц, 1Н), 7,71 (тд, J=7,2, 1,4 Гц), 7,57 (д, J=8,4 Гц, 2Н), 7,38 (тд, J=7,2 Гц, J=1,0 Гц), 7,18 (д, J=8,4 Гц, 2Н), 4,19 (с, 4Н), 3,51 (с, 2Н), 2,86 (шс, 3Н), 2,65 (с, 6Н), 2,60-2,50 (м, 8Н)

Сигналы протона при 4,19 и 3,51 ч./млн. соответствуют винной кислоте. На основании объединения этих пиков соотношение винной кислоты к соединению структуры (I) постоянно составляло 2:1.

*Примечание: Затравочные кристаллы формы А получали объединением 2-((5-хлор-2-((4-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамида и винной кислоты в анизоле/этаноле в условиях, указанных выше, с последующим инициированием образования кристаллов с использованием одного или нескольких методов, таких как (1) охлаждение раствора (например, до комнатной температуры или в морозильной камере), (2) концентрирование раствора (например, медленным испарением или на роторном испарителе) и/или (3) насеканием внутренней

части колбы, содержащей раствор. Полученные таким образом кристаллы были подтверждены как форма A с помощью ^{1}H ЯМР и ПРД анализа.

Пример 23B: Получение кристаллической формы B

К соли моно-винной кислоты 2-((5-хлор-2-((4-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамида (1,75 кг, 2,62 моль) добавляли 5,25 л EtOH и 4,0 л растворителя, дистиллированного при пониженном давлении. Это повторяли дважды, пока содержание воды при титровании по Карлу Фишеру не стало ниже 0,1%. Затем добавляли 52,5 л этанола и нагревали до кипения с обратным холодильником. Затем в течение 2 часов медленно добавляли 0,513 кг L-(+)-винной кислоты в 17,5 л этанола и вносили затравку при 70°C. Затем перемешивание продолжали в течение 12 часов при 70°C и снова нагревали до 80°C и выдерживали в течение 2 часов. Суспензию охлаждали до 20°C в течение 6 часов, а затем продолжали перемешивать еще 12 часов. Кристаллы отфильтровывали, а затем дважды промывали 3,5 л этанола. Кристаллы сушили при пониженном давлении, получая 1,8 кг кристаллов. Затем 1,6 кг этого продукта суспендировали в 16,0 л метил-трет-бутилового эфира и добавляли 0,30 кг бис(пинаколат)диборона при 30°C. Затем смесь нагревали при 40-45°C в течение 12 часов, охлаждали до 30°C и фильтровали. Отфильтрованное твердое вещество промывали 8,2 л метил-трет-бутилового эфира и сушили в вакууме с получением моно-тартрата 2-((5-хлор-2-((4-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамида (1,38 кг, 2,07 моль).

Пример 23C: Получение кристаллической формы D

2-((5-хлор-2-((4-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамид (5 г, 9,69 ммоль) загружали в EtOH (119 г) и смесь нагревали до 80°C. Винную кислоту (1,45 г, 9,69 ммоль), растворенную в EtOH (40 г), добавляли к смеси в течение 2 часов при той же температуре, затем смесь охлаждали до 70°C перед добавлением небольшого количества затравочных кристаллов* для инициирования осаждения. Смесь перемешивали в течение 2 часов и охлаждали до 20°C в течение 5 часов. Твердое вещество собирали фильтрованием, промывали EtOH и сушили с получением монотартрата 2-((5-хлор-2-((4-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамид в виде белого твердого вещества (5,98 г, 8,98 ммоль).

*Примечание: Затравочные кристаллы формы D получали объединением 2-((5-хлор-2-((4-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-N, N-диметилбензолсульфонамида и винной кислоты в анизоле/этаноле в условиях, указанных

выше, с последующим инициированием образования кристаллов с использованием одного или нескольких методов, таких как (1) охлаждение раствора (например, до комнатной температуры или в морозильной камере), (2) концентрирование раствора (например, медленным испарением или на роторном испарителе) и/или (3) насеканием внутренней части колбы, содержащей раствор. Полученные таким образом кристаллы были подтверждены как форма D с помощью ^{1}H ЯМР и ПРД анализа.

Пример 24: Характеризация различных полиморфных форм тартраов соединения структуры (I)

(i) *Стабильность и воспроизводимость*

Другие полиморфные формы соединения структуры (I) сравнивали на их относительную стабильность при различных условиях хранения. Другие полиморфные формы включают форму свободного основания соединения структуры (I), форму B и форму D. Дифрактограмма ПРД форм B и D показана на фиг. 62 и 63, соответственно.

Было обнаружено, что форма A является формой соли винной кислоты, и она былв идентифицирована как имеющая только одну кристаллическую форму (форма A). Для сравнения, образцы ПРД, показывающие наложение формы A (внизу) и формы B (вверху), демонстрируют аналогичный шаблон с некоторыми дополнительными пиками.

(ii) *Профили стабильности*

Каждую из различных форм соединения структуры (I) (т.е. CO, форму A, форму B и форму D) хранили при 40°C и относительной влажности 75%. Через 3 недели все образцы показали хорошую химическую стабильность без значительного снижения чистоты по данным ВЭЖХ. Изменение формы наблюдали только для формы B. Кроме того, как показано на фиг. 65, на которой сравниваются форма A и форма B, форма B, по-видимому, имеет более слабые интенсивности пиков. Более слабая интенсивность пика, возможно, объясняется более низкой кристалличностью.

(iii) *Физические и химические свойства*

В таблице ниже суммированы результаты характеризации и стабильности в твердом состоянии, наблюдаемые для CO и форм A, B и D. Образцы были подготовлены и данные были получены в соответствии с процедурами и процессами, перечисленными выше, если не указано иное. Дополнительные процедуры, процессы и результаты перечислены ниже в таблице 14.

Таблица 14. Краткая оценка физико-химических свойств форм A, B, D и свободного основания

Описание анализа	**Форма A**	**Форма B**	**Форма D**	**Свободное основание**
ПРД	Кристалличес кая	Кристалличе с кая	Кристалличе с кая	Кристалличес кое
Потеря веса (%)	1,8 (160°C)	2,3 (160°C)	2,0 (160°C)	0,22 (120°C)
Эндотерм (пик, °C)	107,8, 152,1,	101,9, 140,1	79,4, 140,7	221,1

Описание анализа		**Форма A**	**Форма B**	**Форма D**	**Свободное основание**
		189,1			
Начальная чистота ВЭЖХ (% площади)		99,6	98,1	98,8	98,3
Чистота ВЭЖХ через 3 недели# (% площади)		99,7	98,2	98,3	98,6
Смена формы через 3 недели[#]		Нет	да	Нет	Нет
Гигроскопичность/ водопоглощение при относительной влажности 80%/ИФ		4,6%/Нет	7,5%/Нет	5,2%/Да	Не гигроскопичное/0,07%/Нет
Морфология		Мелкие частицы с агломерацией			Ромбовидные частицы
Растворимость * (мг/мл)/ИФ	SGF	>17,4/НД	>6,4/НД	>11,0/НД	5,7/Нет
	FaSSIF	>14,8/НД	>8,9/НД	3,9/Да	0,021/Нет
	FeSSIF	5,2/НД*	4,7/НД*	4,6/НД*	1,7/Нет
	pH 2,0	>6,7/НД	>6,6/НД	>6,8/НД	2,6/Да
	pH 4,0	0,45/Да	0,26/Да	0,23/Да	0,17/Да
	pH 6,0	3,8/Да	2,5/Да	1,9/Да	0,014/Нет
	pH 8,0	0,020/Да	0,010/Да	0,0050/Да	0,038/Нет
	pH 10,0	0,0098/Да	0,018/Да	0,053/Да	0,076/Нет

[*]Данные о растворимости были получены через 24 часа.

[#]ниже 40°C/75% относительной влажности

ИФ: Изменение формы

НД: результаты для твердой формы недоступны, поскольку образовался прозрачный раствор

НД*: результаты для твердой формы недоступны, поскольку получен образец масла.

(a) Динамическая сорбция пара (ДСП)

Результаты ДСП показали относительную влажность до 80% при 25°C, водопоглощение было в диапазоне 4,6~7,5% для форм A, B и D с изменением формы, наблюдаемым для формы D. То есть форма D была изменена на новую форму, которая не соответствовала всем четырем известным кристаллическим формам, а свободное основание было негигроскопичным (поглощение воды менее 0,2%) без изменения формы

в конце теста.

(b*) Кинетическая растворимость*

Кинетическую растворимость измеряли в био-релевантных буферах (FaSSIF, FeSSIF и SGF) при 37°C. По сравнению с образцом свободного основания, значительно более высокая растворимость (>5 мг/мл) наблюдалась для форм A, B и D во всех био-релевантных буферах. Аналогичные наблюдения растворимости наблюдали для всех трех форм в SGF и FeSSIF, но форма D показала более низкую растворимость, чем другие формы A и B в FaSSIF.

(c) растворимость pH

Растворимость при pH измеряли в буферах с pH 2, 4, 6, 8 и 10 при 37°C. Результаты показали: i) более высокую растворимость при pH 2, чем растворимость при других pH буфера для каждого образца, и пониженную растворимость в буфере с более высоким pH, особенно в щелочной среде, в которой твердая форма остаточных твердых веществ также изменилась в конце тестирования для форм A, B и D; ii) Форма A показала более высокую растворимость, чем другие полиморфы, в буферах с pH 2, 4 и 6.

Пример 25: Токсикокинетические и токсикологические профили тартратов соединения структуры (I)

Форма A тартрата структуры (I) была разработана для улучшения стабильности и воспроизводимости лекарственного препарата. Предыдущие проблемы со стабильностью встречались с полиморфной формой B. Чтобы новый лекарственный состав имел приемлемый токсикокинетический и токсикологический профиль; исследования проводились на мышах и крысах, сравнивая три препарата:

(1) полиморф формы A

(2) полиморф формы B

(3) полиморф формы D

В каждом исследовании сравнивали форму свободного основания (CO) соединения структуры (I). Исследование однократной дозы проводили на крысах, а исследование повторения дозы в течение 7 дней проводили на мышах.

Исследование токсичности одной дозы

В этом исследовании сравнивали клинические эффекты и фармакокинетику полиморфных форм свободного основания (CO) и тартрата (формы A, B и D) соединения структуры (I) после однократного перорального приема у самцов крыс SD. Оцененные уровни дозы CO составляли 20, 50 и 150 мг/кг. Препараты для испытаний были приготовлены с использованием 1% Tween 80/5% TPGS/стерильной воды для инъекций (об./об./об.), и исследование было спланировано, как показано в таблице 15 ниже:

Таблица 15. План исследования токсичности однократной дозы у крыс

Группы	Доза[1] (мг/кг)	Объем дозы (мл/кг)	Концентрация дозируемого раствора (мг/мл)	Количество животных и пол
1. Носитель	0	10	0	3C
2. Свободное основание, низкая доза	20	10	2	6C
3. Свободное основание, средняя доза	50	10	5	6C
4. Свободное основание, высокая доза	150	10	15	6C
5. Форма B, низкая доза	20	10	2	6C
6. Форма B, средняя доза	50	10	5	6C
7. Форма B, высокая доза	150	10	15	6C
8. Форма A, низкая доза	20	10	2	6C
9. Форма A, средняя доза	50	10	5	6C
10. Форма A, высокая доза	150	10	15	6C
11. Форма D, низкая доза	20	10	2	6C
12. Форма D, средняя доза	50	10	5	6C
13. Форма D, высокая доза	150	10	15	6C

[1] Уровни доз и концентрацию дозируемого раствора рассчитывали как эквиваленты CO на основании поправки на содержание винной кислоты в Форме A, Форме B и Форме D на коэффициенты умножения дозы 1,58, 1,35 и 1,29, соответственно.

Конечные точки в исследовании включали проверки смертности, клинические наблюдения, измерения массы тела и токсикокинетику. После 7-дневного периода наблюдения после введения дозы животных умерщвляли, вскрывали и записывали макроскопические наблюдения.

В день введения дозы, лечение носителем и соединением структуры (I) ≤50 мг/кг хорошо переносилось, за исключением одного животного, которому вводили среднюю дозу формы B, которое было обнаружено мертвым через 7,5 часов после введения дозы. Напротив, смертность часто наблюдали в день приема препарата в группе высоких доз. Смертность наблюдали через 4,5 часа после введения дозы, при этом 100% смертность наблюдали к концу периода восстановления в группах 150 мг/кг CO и форм A, B и D. В течение 7-дневного периода наблюдения после введения смертность или состояние агонии также отмечали в группах со средней дозой (50 мг/кг), но не в группах с низкой дозой или носителем. Уровень смертности был сходным в разных группах лечения.

Клинические признаки в основном присутствовали у крыс при средних и высоких

дозах, и только у нескольких крыс наблюдались клинические признаки при низких дозах. Клинические признаки, отмеченные в группах с высокими дозами, включали пассивность, мягкий кал и диарею, сутулую позу, пилоэрекцию, «холодность на ощупь», потерю веса, анорексию и судороги. Для животных, получавших среднюю дозу свободного основания и форм A, B и D, основными клиническими признаками были анорексия, истощение и потеря веса. Дополнительные клинические признаки включали мягкий кал, диарею, сутулую позу, пассивность, пилоэрекцию, «холодность на ощупь» и неряшливый мех. Единственными клиническими признаками, отмеченными в группах с низкой дозой, были мягкий кал и потеря веса у некоторых животных. У животных, которым вводили носитель, клинических признаков не наблюдалось. Природа и частота клинических признаков были одинаковыми в разных группах лечения.

Дохохависимое снижение массы тела/увеличение массы тела наблюдалось во всех группах тестируемых препаратов. Животные в группе с низкой дозой набирали вес в течение 7-дневного периода наблюдения после введения дозы, но со скоростью ниже, чем в контрольной группе носителя, тогда как потеря массы тела наблюдалась в группах со средней и/или высокой дозой.

Частые находки при аутопсии у всех крыс из группы, получавшей высокие дозы, имели желудочно-кишечное происхождение и включали густую желтоватую жидкость в тонком кишечнике, желудок, полный непереваренной пищи, заполненную жидкостью слепую кишку и отсутствие сформированных фекалий; у одной крысы была отмечена бледность селезенки и печени, а также уменьшение размеров вилочковой железы. У крыс в группах средней дозы аномальные результаты наблюдались реже. Результаты были аналогичны желудочно-кишечным наблюдениям, сделанным в группах с высокими дозами. Не связанные с ЖКТ признаки у нескольких крыс из группы средней дозы включали бледность почек, бледность селезенки и печени, увеличенные надпочечники и уменьшение размера вилочковой железы у некоторых крыс.

После перорального введения CO и форм A, B и D концентрации соединения в плазме увеличивались дозозависимым образом. Для сравнения, все три полиморфные формы тартрата соединения структуры (I) показали аналогичные профили концентрации в плазме. Пропорциональную дозе или близкую пропорциональной дозе концентрацию CO в плазме на основе C_{max} и $ППК_{0-4}$ часа наблюдали для CO и формы B, тогда как для формы A и формы D наблюдали несколько более высокую, чем пропорциональная дозе, концентрацию в плазме.

В заключение, пероральное введение CO и форм A, B и D при уровнях разовой эквивалентной дозы свободного основания 50 и 150 мг/кг вызывало дозозависимые побочные эффекты у самцов крыс, смертность при высоких дозах и аналогичные и значимые клинические признаки при средних и высоких уровнях дозы, характеризуемые анорексией, истощением, потерей веса, мягкими фекалиями, диареей, согнутой спиной и неряшливым мехом. Уровень дозы 20 мг/кг обычно хорошо переносился самцами крыс с незначительными клиническими признаками и снижением прироста массы тела.

Результаты аутопсии у крыс, получавших CO и формы A, B и D, были сходными, но более частыми в группе с высокой дозой по сравнению с группами со средней дозой, при этом наиболее частым наблюдением были патологические изменения со стороны желудочно-кишечного тракта. У некоторых животных, получавших более высокие дозы, также наблюдали бледность печени и селезенки, увеличение надпочечников и уменьшение размера вилочковой железы. Пероральное введение CO и эквивалентов свободного основания тартратов полиморфных форм A, B и D приводило к аналогичным профилям CO в плазме. В целом, аналогичные воздействия и дозозависимые побочные эффекты наблюдались у крыс после перорального введения форм A, B и D.

Токсичность и токсикокинетика повторной дозы

В этом исследовании, клиническое действие и фармакокинетику соединения структуры (I) свободного основания (CO) и трех полиморфных форм тартрата, включая формы A, B и D, после однократного и 7-дневного повторного перорального приема эквивалентной дозы свободного основания на уровне 20, 50 и 80 мг/кг, оценивали на мышах CD-1. Препараты для испытаний были приготовлены с использованием 1% Tween 80/5% TPGS/стерильной воды для инъекций (об./об./об.), и исследование было спланировано, как показано в таблице 16 ниже:

Таблица 16. План исследования токсичносиь повторной дозы у мышей

Группа дозы	**Доза (мг/кг/день)**	**Объем дозы (мл/кг)**	**Концентрация дозы (мг/мл)**	**Основное исследование**	**ФК сателлитные группы**	
					1 день* (Разовая доза	**День 7** (Повторная доза)**
Контрольный носитель						
Носитель	0	10	0	3M[a]	--	--
Дозы различных формсоединения структуры (I) (*т.е.* свободного основания, формы A, формы B и формы D)						
Низкая доза	20	10	2	--	15C	15C
Средняя доза	50	10	5	--	15C	15C
Высокая доза	80	10	8	--	15C	15C

C =самец

[a] Контрольным животным вводили носитель в течение 7 дней.

*ФК в день 1 (конечное кровоизвлечение пункцией сердца у 3C для каждой

временной точки, 5 временных точек).

**ФК на 7-й день после 7-дневного повторения дозы (конечное кровоизвлечение пункцией сердца у 3С для каждой временной точки, 5 временных точек).

Конечные точки во время исследования включали клинические наблюдения, массу тела и токсикокинетику. Животные, умерщвленные из-за чрезмерной потери массы тела в группах, определенных токсикологами, были умерщвлены, вскрыты и зарегистрированы макроскопические наблюдения.

Введение разовой дозы носителя и соединения структуры (I) (свободного основания и полиморфа) в низких, средних и высоких дозах и 7 дневных доз в низких и средних дозах в течение 7 дней. хорошо переносились. Только при высоком уровне дозы одна мышь умерла в группе формы D. Самая высокая доза (80 мг/кг) привела к аналогичному снижению средней массы тела в течение 7-дневного периода наблюдения во всех группах. При дозах ≤50 мг/кг/день не наблюдалось никакого воздействия на массу тела.

Клинические признаки присутствовали у мышей в группах с высокими дозами, начиная с 6 или 7 дня лечения. Отмеченные клинические признаки включали пассивность, вялость, пилоэрекцию, бледность, одышку, сутулость спины, птоз, бледность, прострацию, холодность на ощупь и потерю веса. Клинические признаки наблюдались у 11/15 (73%) мышей, получавших CO, 10/15 (67%), 10/15 (67%) и 15/15 (100%) мышей, получавших дозу формы A, формы B и форма D, соответственно. К 7 дню серьезная потеря веса (>25% от начальной массы тела) привела к эвтаназии 3/15 (20%) мышей, получавших CO, и 4/15 (27%), 3/15 (20%) и 4/15 (27%) мышей, которым вводили дозу формы A, формы B и формы D, соответственно.

Открытия ранних вскрытий животных, умерщвленных из-за сильной потери веса, в основном имели желудочно-кишечное происхождение. Первичной находкой было наличие желтоватой жидкости в тонком кишечнике и, в некоторых случаях, кровотечение из тонкого кишечника. Растяжение слепой кишки и наличие жидкости наблюдались у 7 животных, подвергнутых аутопсии. Другие находки органов включали вздутие живота, заполненного пищей, и уменьшение размера вилочковой железы. Результаты, как правило, были равномерно распределены по группам лечения.

Для сравнения, все три полиморфные формы имели сходные токсикокинетические профили. Воздействие увеличивалось с увеличением уровней доз с каждой полиморфной формой.

В заключение, пероральное введение однократной дозы CO и форм A, B и D в эквивалентных дозах свободного основания 20, 50 и 80 мг/кг и 7 суточных доз 20 и 50 мг/кг/день переносились хорошо. Ежедневное введение CO и формы A, формы B и формы D в течение семи дней вызывало клинические признаки и серьезную потерю массы тела при максимальной дозе, что приводило к преждевременному умерщвлению нескольких животных на 6 или 7 день введения дозы. Результаты аутопсии у мышей, которым вводили дозу, которые либо умерли, либо были усыплены из-за сильной потери веса,

были преимущественно ограничены желудочно-кишечным трактом; также было отмечено уменьшение размеров вилочковой железы. Токсикокинетический профиль различных полиморфных композиций был сходным. В целом природа и частота эффектов, наблюдаемых при высокой дозе у мышей, были аналогичными после семи дней перорального приема CO и форм A, B и D.

Пример 26. Колонии клеток рака яичников чувствительны к соединению структуры (I)

Колонии клеток рака яичников обрабатывали различными дозами тартрата соединения структуры (I) и оценивали жизнеспособность клеток. Жизнеспособность клеток при каждой дозе наносили на график для построения кривой доза-ответ и определения значений IC_{50} для каждой колонии клеток. Значения IC_{50} показаны в таблице 17.

Таблица 17. Значения IC_{50}

Колония клеток	IC_{50} Активности
Ovcar3	++
Ovcar8	++
Skov3	+
OVTOKO	++
OVMANA	++
Kuramochi	++

IC_{50} Активности: ++ = <1 мкМ; + = от 1 до 10 мкМ

Пример 27: Колония клеток рака яичников ES-2 чувствительна к соединению структуры (I)

Клетки ES-2, которые представляют собой колонию клеток рака яичников светлоклеточного гистотипа, анализировали на жизнеспособность в присутствии тартрата соединения структуры (I). Жизнеспособность клеток измеряли в интервале доз тартрата соединения структуры (I) для создания кривой доза-ответ, которая показана на фиг. 66. Как показано на фиг. 66, значение IC_{50} для обработки клеток ES-2 тартратом соединения структуры (I) составляет 20 нМ.

Пример 28: Соединение структуры (I) эффективно ингибирует рост устойчивых к химиотерапии опухолевых клеток яичников и светлоклеточных опухолевых клеток яичников in vitro

Чтобы проверить, обладает ли тартрат соединения структуры (I) действием против устойчивых к химиотерапии колоний клеток яичников, чувствительность к цисплатину (CDDP) измеряли в различных колониях клеток яичников. PA-1, A2780, OVISE и OVTOKO показали чувствительность к CDDP (IC_{50} = <1 мкМ), тогда как другие колонии клеток показали устойчивость к CDDP (IC_{50}>2,5 мкМ). Тартрат соединения структуры (I) убивает несколько устойчивых к химиотерапии колоний клеток рака яичников в низких дозах (фиг. 67, верхняя левая и правая панели).

Кроме того, тартрат соединения структуры (I) подавляет рост опухолевых клеток яичников более эффективно, чем другие соединения, нацеленные на AXL (кабозантиниб, форетиниб), в CDDP-устойчивой колонии клеток Kuramochi (фиг. 67, нижняя панель). Клетки Kuramochi обрабатывали различными дозами тартрата соединения структуры (I), кабозантиниба и форетиниба в течение 96 часов. Затем жизнеспособность клеток определяли с помощью анализа Alamar Blue, на основании которого определяли значения IC_{50} для CDDP и тартрата соединения структуры (I). Графики представляют ответную реакцию клеток Kuramochi на дозу для каждого соединения. Клетки Kuramochi обрабатывали тартратом соединения структуры (I) или Кабозантинибом в указанной концентрации в течение 8 часов, лизировали и подвергали вестерн-блоттингу на тубулин и AXL, фосфорилированные в сайте Y779 или Y702. Фосфо-AXL (Y702) снижался тартратом соединения структуры (I) (100 нМ), а также Кабозантинибом (1 мкМ), c-Met, VEGFR2 и ингибитором AXL (фиг. 68). Необходимо отметить дозозависимую потерю фосфорилирования AXL в сайте Y702, который лучше всего представляет активность AXL киназы, при обработке соединением структуры (I).

Пример 29: Маркеры ЭМП подавляются в раковых клетках яичников при обработке соединением структуры (I)

Эпителиально-мезенхимальные (ЭМП) маркеры количественно определяли с помощью анализа экспрессии мРНК (с использованием РВ-кПЦР) после обработки тартратом соединения структуры (I). Как показано на фиг. 69, через два часа после обработки тартратом соединения структуры (I) маркеры ЕМТ подавляются более высокими дозами соединения структуры (I).

Однако, как показано на фиг. 70, маркеры ЭМП больше не подавляются через двадцать четыре часа после обработки тартратом соединения структуры (I). Как показано на фиг. 71, уровни экспрессии белка измеряли для маркеров ЭМП Snail и Slug после обработки тартратом соединения структуры (I), и уровни экспрессии белка соответствовали уровням экспрессии мРНК.

Пример 30: Соединение структуры (I) эффективно ингибирует миграцию опухолевых клеток яичников.

На Фиг. 72 показано влияние ингибиторов AXL киназы (тартрат соединения структуры (I) и BMS-777607) на миграцию опухолевых клеток яичников в анализе методом зарастания царапины. Клетки опухоли яичников ES-2 предварительно обрабатывали различными дозами тартрата соединения структуры (I) или другого ингибитора AXL, BMS-777607, в течение 6 часов перед царапанием устройством для нанесения царапин Incucyte. Изображения были сделаны через 18 часов после царапания. Тартрат соединения структуры (I) показал сильное ингибирование миграции клеток ES-2, колонии клеток светлоклеточной карциномы яичников, тогда как другой ингибитор AXL, BMS-777607, не ингибировал миграцию даже при 10 мкМ.

Пример 31: Эффективность соединения структуры (I) in vivo на модели ксенотрансплантата рака яичника мыши

Эффективность тартрата соединения структуры (I) измеряли с использованием мышиной модели интраперитонеального ксенотрансплантата ES-2. Мышам внутрибрюшинно вводили клетки ES-2, а затем обрабатывали либо носителем (n=6), либо 25 мг/кг тартрата соединения структуры (I) (n=6), либо 50 мг/кг тартрата соединения структуры (I) (n=5).

Лечение значительно подавляла развитие асцита (объем асцита, носитель: 3,34 мл, тартрат соединения структуры (I): 0,28 мл; окружность живота, носитель: 7,96 см (15-е сутки), тартрат соединения структуры (I): 6,82 см (15-е сутки), $p<0,05$). На фиг.73 показана окружность мышей после лечения (с пятого по девятнадцатый день после имплантации) и типовая фотография мыши в каждой группе лечения на 20 день после имплантации. На фиг. 74 показан график массы тела мышей после лечения с пятого по девятнадцатый день после имплантации. Как можно видеть на фиг. 73 и фиг. 74, тартрат соединения структуры (I) показал эффективность при 25 мг/кг и 50 мг/кг в модели внутрибрюшинной диссеминации ES-2.

Пример 32: Профили цитокинов и хемокинов в асцитной жидкости после обработки in vivo соединением структуры (I)

Панель хемокинов и цитокинов измеряли через два часа, двадцать четыре часа и две недели после лечения мышей с ксенотрансплантатом ES-2 тартратом соединения структуры (I). На фиг. 75 показаны результаты визуализации набора Proteome Profiler Human Chemokine Array Kit (левая панель) и относительное количественное определение цитокинов/хемокинов по сравнению с контрольным носителем. Как можно видеть на фиг. 75, CXCL12 и G-CSF уменьшились после лечения тартратом соединения структуры (I).

Пример 33: Маркеры ЭМП в асцитной жидкости после лечения соединением структуры (I)

На Фиг. 76 показаны уровни экспрессии мРНК маркеров EMT, проанализированные в асцитной жидкости после лечения тартратом соединения структуры (I). Как видно на фиг. 76, маркеры ЭМП не подавлялись в асцитной жидкости после лечения. Фактически, например, содержание GAS6 повышалось уже через два часа после лечения тартратом соединения структуры (I).

Пример 34: Растворимые факторы AXL, GAS6 и PD-L1 подавляются после обработки in vivo соединением структуры (I)

На Фиг. 77 показаны уровни белка AXL, GAS6 и PD-L1 после лечения тартратом соединения структуры (I) 25 мг/кг или 50 мг/кг. Уровни белка измеряли с помощью анализа ELISA.

Как видно на фиг. 77, AXL, GAS6 и PD-L1 подавлялись после лечения тартратом соединения структуры (I). Чтобы определить, обуславливались ли подавленные уровни AXL, GAS6 и PD-L1 подавлением этих факторов из опухолевых клеток, измеряли уровень экспрессии каждого фактора у мыши по сравнению с человеком. Как видно на фиг. 78, AXL в основном высвобождается из клеток ES-2 (человеческих клеток), тогда как GAS6 высвобождается в основном из не раковых клеток (мышиных клеток). PD-L1 равнознвчно

выделялся из клеток ES-2 и не раковых клеток.

Пример 35: Эффективность соединения структуры (I) в дозе 60 мг/кг in vivo на модели ксенотрансплантата рака яичника у мышей

Эффективность in vivo тестировали для 60 мг/кг тартрата соединения структуры (I) на модели внутрибрюшинной трансплантации колонии клеток светлоклеточной карциномы яичника ES-2. Проницаемость сосудов из-за метастатической колонизации внутрибрюшинных мембран опухолевыми клетками является основной причиной развития асцита у больных раком яичников. Эта модель ксенотрансплантата позволила оценить развитие асцита, перитонеальное и мезентериальное распространение опухолевых клеток.

Клетки светлоклеточной карциномы яичников ES-2, трансфицированные вектором экспрессии люциферазы pPGL4.1 (1×10^6 клеток), вводили внутрибрюшинно мышам BALB/cAnNCrj-nu/nu. Через 5 дней после инъекции измеряли экспрессию люциферазы, что указывало на внутрибрюшинный рост раковых клеток. Затем 12 мышей произвольно распределяли на две группы для введения носителя и 60 мг/кг тартрата соединения структуры (I). Соединение структуры (I) получали в носителе из буфера TPGS и вводили через желудочный зонд. Препараты вводили по схеме «5 дней приема, 2 дня отдыха» в 2 курса. Типовые изображения мышей были получены на 14 день (фиг. 79, верхняя левая панель). Для мышей в обеих группах лечения (60 мг/кг тартрата соединения структуры (I) по сравнению с контрольным носителем) масса тела показана на фиг. 79, верхняя правая панель; окружность живота показана на фиг. 79 нижняя левая панель; объем восстановленного асцита показан на фиг. 79, нижняя средняя панель; и процент выживаемости показан на фиг. 79, нижняя правая панель (которая дополнительно включает мышей, получавших цисплатин, «CDDP», в дозе 2,5 мг/кг, внутривенно, 1/нед). Лечение тартратом соединения структуры (I) (60 мг/кг, PO, орд) значительно подавляло развитие асцита (объем асцита, носитель 3,34 мл, тартрат соединения структуры (I) - 0,28 мл, окружность живота, носитель - от 6,48 см (день 0) до 7,96 см (день 15), тартрат соединения структуры (I) от 6,55 см (день 0) до 6,82 см (день 15), $p<0,05$) без какой-либо потери массы тела. Соединение структуры (I) также значительно продлевает общую выживаемость по сравнению с носителем или цисплатином, «CDDP».

Пример 36: Эффективность соединения структуры (I) в дозе 60 мг/кг in vivo на модели ксенотрансплантата рака яичника у мышей

Через 24 часа после инъекции клеток ES-2, как описано в примере 10, опухолевые клетки собирали из брюшной полости, затем лизировали и проводили вестерн-блоттинг на тубулин, общий AXL и фосфорилировали в сайте Y702 (фиг. 80, левая панель). График показывает относительное фосфорилирование AXL для группы лечения по сравнению с группой, обработанной носителем (фиг. 80, правая панель). Как показано на фиг. 80, тартрат соединения структуры (I) в дозе 60 мг/кг снижал через 24 часа соотношение p-AXL (Y702)/AXL в собранных опухолевых клетках брюшной полости. Эти результаты показали, что тартрат соединения структуры (I) напрямую блокирует рост

метастазированных клеток рака яичников.

Пример 37: Разработка модели опухолевого асцита OVCAR3

Модель OVCAR-3 для асцита, вызванного раком яичников, используемая в этом исследовании, адаптировали из следующих источников: Hamilton et al. 1984. Can Res.; Hu et al. 2002. Am J Pathol. Коротко, мышам вводили 1×10^7 клеток OVCAR3/мышь. После того, как в месте инъекции начали развиваться подкожные опухоли, регулярно контролировали окружность живота. На фиг. 81 показаны окружности живота (левая панель) и масса тела (правая панель) мышей с опухолью в сравнении с мышами без опухоли. На фиг. 82 показан объем асцита и типовые фотографии мышей, получавших лечение в исследовании, при этом мыши без опухолей показаны слева, а мыши с опухолями показаны справа. При внутрибрюшинной инъекции клеток OVCAR3 у мышей увеличилась окружность живота и увеличился объем асцита.

Пример 38: In vitro цитотоксичность и in vivo эффективность соединения структуры (I) на модели внутрибрюшинного ксенотрансплантата

Цитотоксичность in vitro тестировали в анализе пролиферации клеток A2780cis. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью теста CellTiter-Glo. Результаты обработки клеток различными дозами тартрата соединения структуры (I) через три дня после обработки показаны на фиг. 83.

Эффективность in vivo тестировали для носителя (n=8), 15 мг/кг (n=8) и 30 мг/кг (n=8) тартрата соединения структуры (I) и CDDP 5 мг/кг. (n=8) в модели внутрибрюшинной трансплантации колонии клеток карциномы яичника A2780cis. Клетки карциномы яичников A2780cis (1×10^7/мышь) вводили мышам внутрибрюшинно. Через пять дней после имплантации лекарственные средстваа, за исключением CDDP, вводили перорально один раз в день, а CDDP вводили внутрибрюшинно один раз в неделю. На фиг. 84 показана окружность, а на фиг. 85 показана масса тела мышей через 5-25 дней после имплантации. На фиг.86 показаны типовые фотографии мышей в исследовании на 25 день после лечения, мышь, обработанная носителем, находится слева, а мышь, обработанная 30 мг/кг тартрата соединения структуры (I), находится справа.

Опухоли лизировали, и мРНК и белок экстрагировали через четыре часа после последнего введения тартрата соединения структуры (I). Уровни экспрессии генов в опухолях анализировали с помощью РВ-кПЦР (n=7-8). Экспрессия CYP26A1, Snail, Slug, Twist, Axl, GAS6, CDH1, CDH2 и ZEB1, нормализованная по экспрессии GAPDH, показана на фиг. 87.

Как показано на фиг. 88, уровни экспрессии белка измеряли с помощью вестерн-блоттинга для Snail и β-актина в качестве контроля нагрузки после обработки тартратом соединения структуры (I). Образцы были объединены для каждой группы (n=7-8).

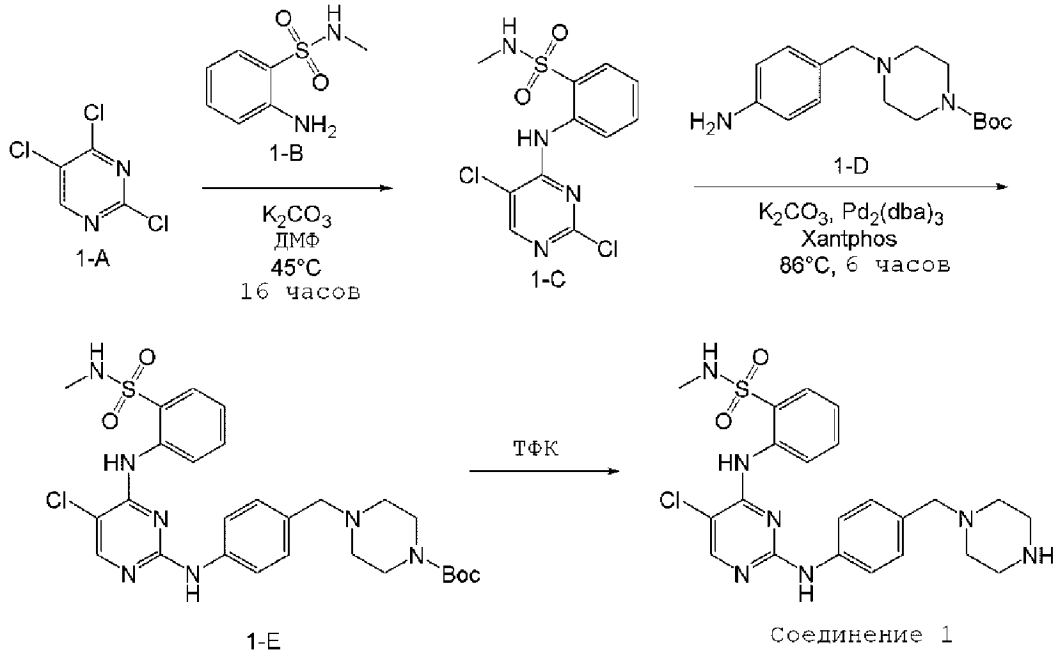
Сыворотку собирали через четыре часа после последнего введения тартрата соединения структуры (I). Экспрессию Axl человека в сыворотке измеряли с помощью ELISA, как показано на фиг. 89.

Пример 39: Тестирование эффективности соединения структуры (I) на модели

опухолевого асцита OVCAR3

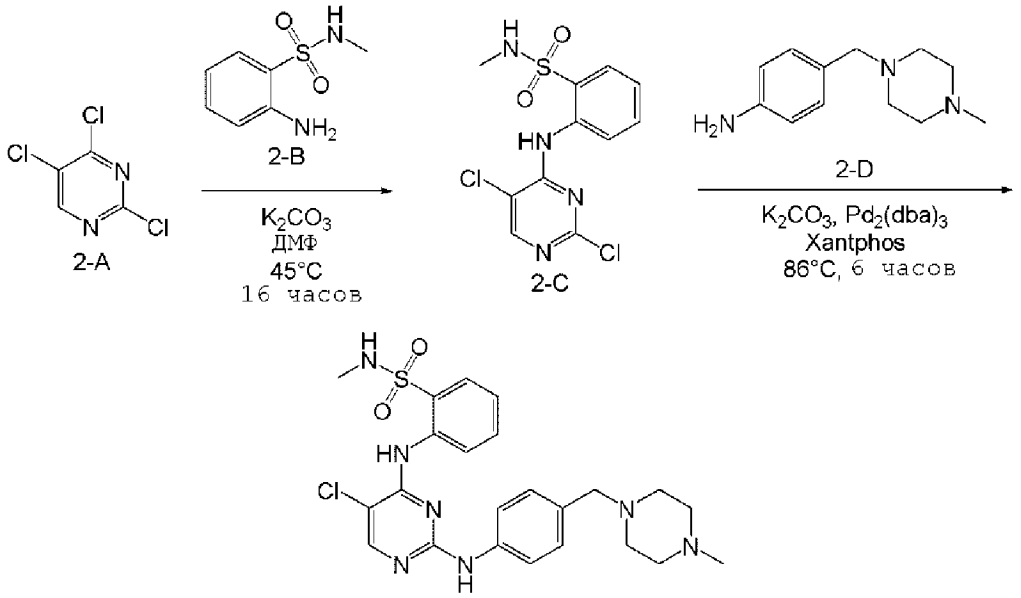
После внутрибрюшинной инокуляции клетками OVCAR3 мышей лечили тартратом соединения структуры (I) (например, n=6) или контрольным носителем (например, n=6), и окружность живота и массу тела каждой мыши измеряли для определения эффективности тартрата соединения структуры (I). Уровни растворимых AXL, GAS6 и PD-L1 также измеряли у мышей в обеих группах лечения.

Пример 40: Синтез Соединения 1



Соединение 1 синтезировали взаимодействием соединения 1-A с 1-B в условиях, указанных выше. Затем соединение 1-C подвергали взаимодействию с соединением 1-D, используя указанные условия реакции, с получением продукта 1-E. Затем защитную группу амина удаляли с использованием подходящих кислотных условий (например, ТФК или HCl в диоксане). Очистку с использованием стандартных методов *(например,* хроматографии на силикагеле или препаративной ВЭЖХ) проводили по мере необходимости.

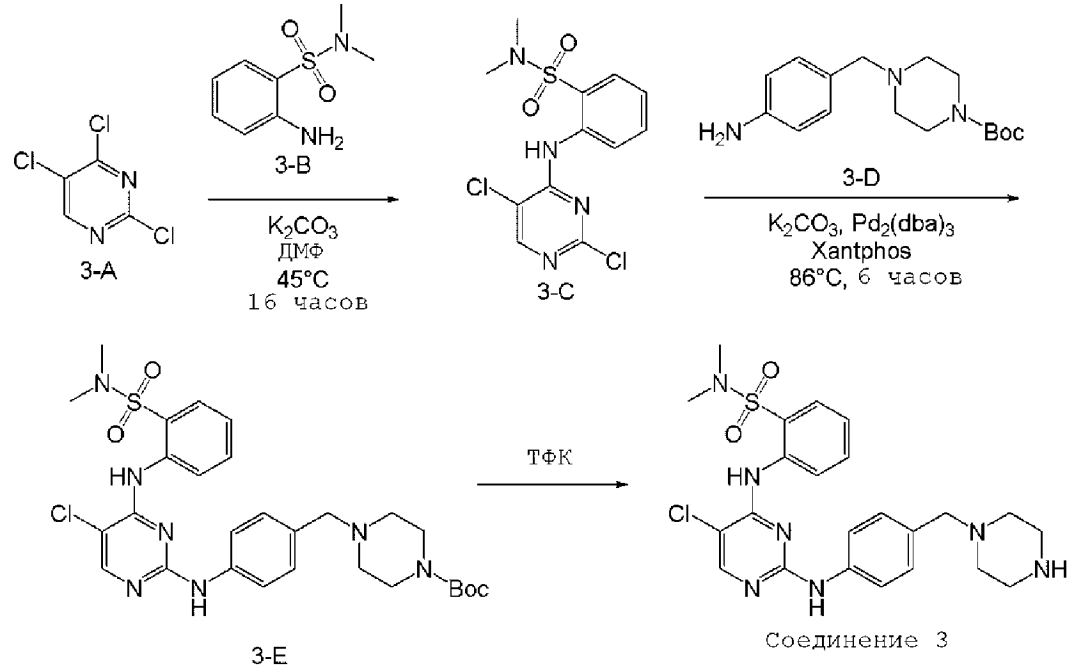
Пример 41: Синтез Соединения 2



Соединение 2

Соединение 2 синтезировали взаимодействием соединения 2-A с 2-B в условиях, указанных выше. Затем соединение 2-C подвергали взаимодействию с соединением 2-D, используя указанные условия реакции, с получением желаемого продукта (соединение 2). Очистку с использованием стандартных методов *(например,* хроматографии на силикагеле или препаративной ВЭЖХ) проводили по мере необходимости.

<u>Пример 42:</u> Синтез Соединения 3

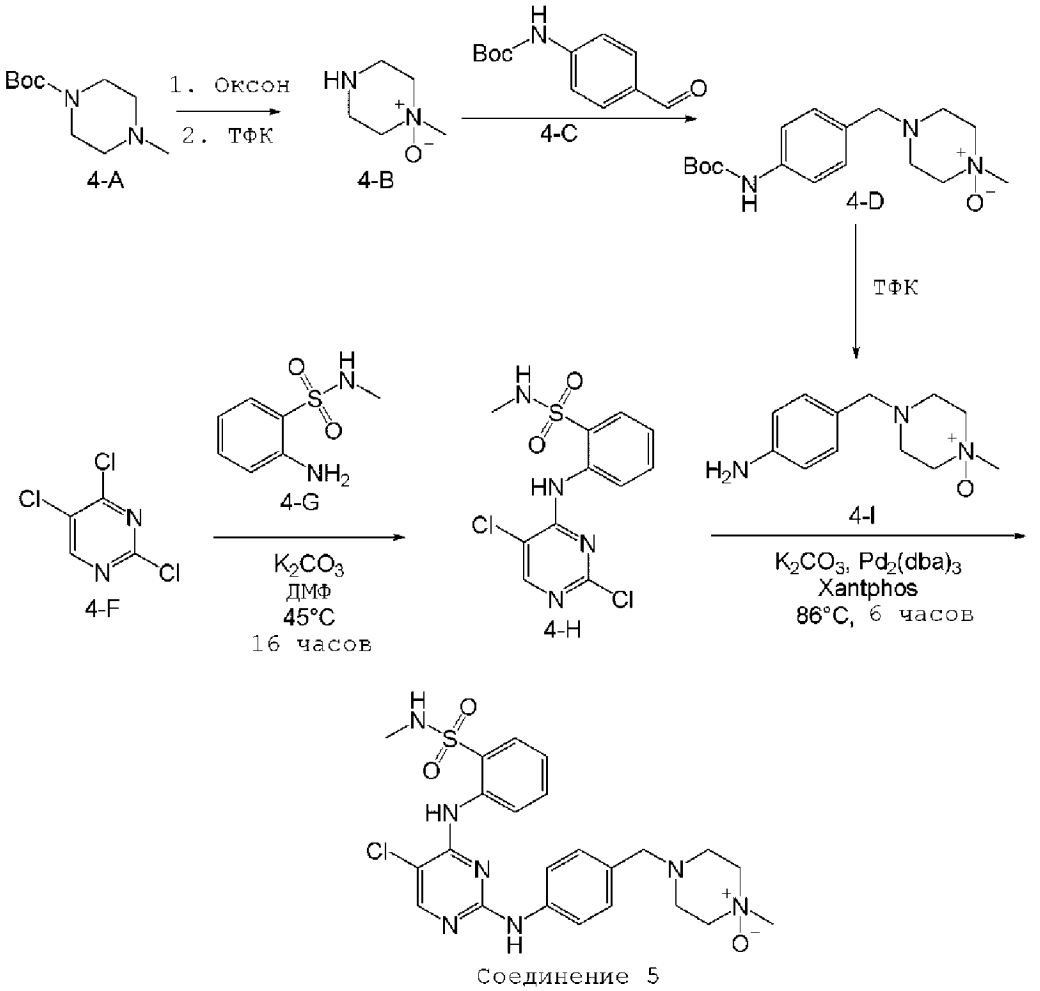


Соединение 3

Соединение 3 синтезировали взаимодействием соединения 3-A с 3-B в условиях, указанных выше. Затем соединение 3-C подвергали взаимодействию с соединением 3-D, используя указанные условия реакции, с получением продукта 3-E. Затем защитную группу амина удаляли с использованием подходящих кислотных условий *(например,* ТФК или HCl в диоксане) с получением Соединения 3. Очистку с использованием стандартных

методов *(например,* хроматографии на силикагеле или препаративной ВЭЖХ) проводили по мере необходимости.

Пример 43: Синтез Соединения 5



Соединение 4-A обрабатывали Oxone® (т.*е.* пероксимоносульфатом калия) и снимали защиту в кислых условиях (например, ТФК). Продукт 4-B со снятой защитой затем соединяли с альдегидом 4-C восстановительным аминированием с получением желаемого продукта 4-D. Затем с соединения 4-D снимали защиту с получением соединения 4-I, как указано выше.

Параллельно соединение 4-F подвергали взаимодействию с 4-G в условиях, указанных выше. Затем соединение 4-H подвергали взаимодействию с соединением 4-I, полученным, как описано выше, с получением желаемого продукта, соединения 5. Очисткн с использованием стандартных методов *(например,* хроматографии на силикагеле или препаративной ВЭЖХ) проводили по мере необходимости.

Пример 44: ФК-данные метаболита соединения IV

Типовые примеры субъектов, которым вводили соединение структуры (IV), представлены на фиг. 90-92 (16 мг/м^2). Данные показывают концентрацию соединения структуры (VI) и двух метаболитов соединений (т.е. соединений 2 и 3). Данные были собраны в первый день приема (D1) и на 21 день (D21).

Как показано на фиг. 90, соединение 2 и соединение 3 наблюдали при

относительных уровнях концентрации приблизительно 1:1 и 1:10 с соединением структуры (IV), соответственно, у этого субъекта. Как показано на фиг. 91, соединение 2 и соединение 3 наблюдали при относительных уровнях концентрации приблизительно 1:2 и 1:4 с соединением структуры (IV), соответственно, у этого субъекта. Как показано на фиг. 92, соединение 2 и соединение 3 наблюдали при относительных уровнях концентрации приблизительно 1:1 и 1:3 с соединением структуры (IV), соответственно, у этого субъекта.

Кроме того, общий фармакокинетический профиль для соединения 2 и соединения 3 аналогичен соединению структуры (VI) с точки зрения T_{max} накопления и клиренса.

Средняя площадь под кривой (ППК) от начальной точки времени до последней точки времени показана на фиг.93. Значения ППК для метаболитов (соединения 2 и 3) в 2-3 раза выше, чем только у соединения VI. К 21 дню значения ППК пропорционально выше (примерно в 4 раза).

Пример 46: Оценка сердечнососудистой безопасности соединения структуры (I) у собак

В этом примере сообщается об исследовании потенциальной токсичности и токсикокинетики тартрата соединения структуры (I) при пероральном введении собакам в течение 28 дней подряд, а также о прогрессировании или регрессе любых эффектов после 14-дневного периода восстановления без лечения.

Электрокардиограммы (6 отведений от конечностей) получили для всех животных один раз в течение периода до лечения и на 27 день дозирования примерно через 1,5 часа после введения дозы; близко к T_{max} (2 ч ± 30 минут). Кривые оценивали на предмет значительных изменений, указывающих на сердечные электрические аномалии. Также оценивали частоту сердечных сокращений (ЧСС) (отведение II), ритм или нарушения проводимости. Каждую ЭКГ оценивали по ЧСС, ритму, продолжительности зубца P, продолжительности QRS, интервалу PR и продолжительности QT. Морфологию комплексов QRS оценивали в отведениях во фронтальной плоскости на предмет значительных аномалий. Электрокардиограммы оценивал сертифицированный ветеринарный кардиолог.

Артериальное давление (АД) с использованием неинвазивной техники регистрировали примерно в то же время, что и ЭКГ, и ого включало ЧСС и систолическое/диастолическое АД.

Частота сердечных сокращений, интервал PR, продолжительность зубца P и продолжительность QRS были в пределах нормы для всех групп, и не было отмечено значительных различий между группами в разные моменты времени. Интервал QT был в пределах нормы для всех групп и всех временных точек. ЧСС до исследования была значительно ниже в группе высокой дозы по сравнению со всеми другими группами, что считается случайной находкой. Никаких аритмий не отмечали в разных группах в разные моменты времени.

Пример 47: Дополнительные доклинические исследования; езопасность, фармакология и токсичность/фармакокинетика для животных соединения структуры (I)

Фармакодинамические и биомаркерные исследования in vivo

Для определения движения биомаркеров in vivo, уровни CYP26A1 измеряли в опухолях мышей, получавших тартрат соединения структуры (I). Опухолевые ткани бестимусных голых мышей, несущих подкожно ксенотрансплантаты опухоли MV4-11, удаляли через 6 или 24 часа после однократной пероральной дозы соединения (180 мг/кг). Уровни CYP26A1 измеряли иммуногистохимическим методом (ИГХ), а также оценкой РВ-кПЦР. Результаты показали, что соединение структуры (I) ослабляет AXL-ассоциированные биомаркеры in vivo.

Фармакология безопасности

Провели ряд анализов для оценки потенциального действия тартрата соединения структуры (I) на активность hERG.

(i) *Действие на функцию канала hERG*

Биохимическое связывание с каналом hERG оценивали с использованием анализа поляризации флуоресценции Predictor™ hERG (Invitrogen). Результаты показали, что тартрат соединения структуры (I) является слабым биохимическим ингибитором активности hERG, демонстрируя IC_{50} более 1 мкМ. Кроме того, также провели 3 отдельных hERG пэтч-кламп анализа, 2 с использованием клеток HEK-293 и 1 с использованием клеток CHO. Исследование No. 191081 предполагает, что тартрат соединения структуры (I) ингибирует активность hERG более чем на 50% при концентрации 1 мкМ в трансфицированных клетках HEK-293. Однако данные двух других пэтч-кламп анализов, проведенных как на клетках HEK-293, так и на клетках CHO, более согласуются с данными бесклеточного биохимического скрининга, из чего можно сделать заключение, что ингибирование hERG не является значимым (>50%) в дозе ниже 1 мкМ тартрата соединения структуры (I).

(ii) *Скрининг панели рецепторов*

Тартрат соединения структуры (I) подвергали скринингу с помощью «панели Safety 44» рецепторов и ферментов, связанных с безопасностью, предлагаемой Cerep. Соединение структуры (I) ингибировало только 15 из этих анализов при скрининге с максимальной тестируемой дозой 10 мкМ. Основываясь на данных фармакокинетики у животных, моделях эффективности на животных и данных токсикологии, концентрация 10 мкМ не была достигнута у животных и, как ожидается, не будет достигнута в будущих исследованиях на людях. Следовательно, не ожидается, что ингибирование нецелевого рецептора приведет к возникновению серьезных вопросов относительно токсичности при будущих испытаниях соединения структуры (I).

(iii) *Оценка сердечнососудистой безопасности у собак*

Провели исследование для изучения потенциальной токсичности и токсикокинетики тартрата соединения структуры (I) при пероральном введении собакам в течение 28 дней подряд, а также прогрессирования или регресса любых эффектов после 14-дневного периода восстановления без лечения.

Электрокардиограммы (ЭКГ) (6 отведений от конечностей) получили для всех

животных один раз в течение периода до лечения и на 27 день введения дозы примерно через 1,5 часа после введения дозы; близко по времени к C_{max} (пиковое время) (T_{max}) (2 ч ± 30 минут). Кривые оценивали на предмет значительных изменений, указывающих на сердечные электрические аномалии. Также оценивали частоту сердечных сокращений (ЧСС) (отведение II), ритм или нарушения проводимости. Каждую ЭКГ оценивали по ЧСС, ритму, продолжительности зубца P, продолжительности QRS, интервалу PR и продолжительности QT. Морфологию комплексов QRS оценивали в отведениях во фронтальной плоскости на предмет значительных аномалий. ЭКГ оценивал сертифицированный ветеринарный кардиолог.

Артериальное давление (АД) с использованием неинвазивного метода регистрировали примерно в то же время, что и ЭКГ, и включало ЧСС и систолическое/диастолическое АД.

Частота сердечных сокращений, интервал PR, продолжительность зубца P и продолжительность QRS были в пределах нормы для всех групп, и не было отмечено значительных различий между группами в разные моменты времени. Интервал QT был в пределах нормы для всех групп и всех временных точек. ЧСС до исследования была значительно ниже в группе высокой дозы по сравнению со всеми другими группами, что считается случайной находкой. Никаких аритмий не отмечали в разных группах в разные моменты времени.

Доклинические исследования абсорбции, распределения, метаболизма и выведения

(i) *Действие транспортера лекарственного средства*

Тартрат соединения структуры (I) тестировали в анализе двунаправленной проницаемости клеток с использованием конфлюэнтного монослоя клеток Caco-2 в 96-луночном формате. Фенотерол, пропраналол и дигоксин использовали в качестве контроля. Коэффициент эффлюкса (среднюю кажущуюся проницаемость [Papp] A к B/среднюю Papp B к A) для тартрата соединения структуры (I) был определен как 1,49. Хотя восстановление массы было низким, эти данные позволяют предположить, что соединение структуры (I) не является субстратом для гликопротеина P, а является соединением с умеренной проницаемостью.

(ii) *Действие CYP450*

Тартрат соединения структуры (I) оценивали на ингибирование изоферментов человеческого цитохрома P450 (CYP) с использованием микросом печени человека в присутствии НАДФН. При концентрации 10 мкМ тартрат соединения структуры (I) ингибировал активность только изоформы 2C19 более чем на 50% из изоферментов, выбранных для тестирования. Значения IC_{50} определяли для всех изоферментов CYP, используемых в панели, и, в соответствии с данными о процентном ингибировании, только 2C19 ингибировался при концентрации ниже 10 мкМ (IC_{50} 4,4 мкМ).

(iii) *Исследования стабильности микросом печени*

Определяли стабильность тартрата соединения структуры (I) в присутствии

выделенных микросом от 3 видов (человека, крысы и собаки). Концентрацию тартрата соединения структуры (I) измеряли методом жидкостной хроматографии-тандемной масс-спектрометрии (ЖХ-МС/МС) со ссылкой на стандартную кривую. $t_{1/2}$ тартрата соединения структуры (I) варьировалось от 4,3 минут у людей до 4,9 минут у собак.

(iv*) Связывание с сывороточным альбумином*

Уровни связывания сывороточного альбумина для соединения тартрата соединения структуры (I) определяли с использованием плазмы человека анализом на диализной пластине. Свободную фракцию тартрата соединения структуры (I) измеряли с помощью ЖХ-МС/МС со ссылкой на стандартную кривую, и варфарин использовали в качестве контроля. Данные показали, что соединение структуры (I) имеет умеренное связывание с человеческим сывороточным альбумином (7% несвязанного). Восстановление связанного с белком лекарственного средства (80,3%) показало, что связывание было обратимым.

(v*) pKa соединения структуры (I)*

Значения pKa для тартрата соединения структуры (I) определяли титрованием с использованием определения ультрафиолетового стандарта. pKa определяли в водном буфере и отдельно в присутствии 2 сорастворителей (80% метанола и 60% ДМСО). Конечные значения pKa рассчитывали как среднее значение 3 значений, полученных при различных условиях растворителя, за исключением pKa 3, для которого значение pKa, определенное в ДМСО, было исключено. Окончательные значения pKa для pKa1, pKa2 и pKa3 составляли 3,02, 3,96 и 7,81 соответственно.

(vi) pH-*зависимая растворимость соединения структуры (I)*

Равновесную растворимость тартрата соединения структуры (I) определяли в следующих средах: USP буферы с pH 3,5, 4,5, 5,5, 6,5, 0,1N HCl, SGF, искусственном кишечном соке натощак и искусственном кишечном соке после еды. Как и ожидалось, на основании определения pKa, тартрат соединения структуры (I) показал наибольшую растворимость в кислой среде.

Токсикология и фармакокинетика у животных

(i) 7-*дневное повторное исследование по определению диапазона пероральных доз соединения структуры (I) с ФК однократной и многократной доз у крыс*

На крысах проводили 7-дневное повторное исследование по определению диапазона пероральных повторных доз тартрата соединения структуры (I) с фармакокинетикой (ФК) однократной и многократной доз. Группы из 4 самцов и 4 самок крыс получали 2, 4 или 8 мг/кг тартрата соединения структуры (I), растворенного в 1% Tween 80/5% сукцината D α-токоферолполиэтиленгликоля 1000 (TPGS)/воде (об./об./об.) через желудочный зонд один раз в день в течение 7 дней подряд с последующим 7-дневным периодом наблюдения.

Анализ всех собранных данных, клинических наблюдений, массы тела, изменений массы тела, потребления пищи, оценки клинической патологии, общей аутопсии и веса органов показал, что уровни доз тартрата соединения структуры (I), составляющие 2 и 4 мг/кг/день, вводимые перорально один раз в день в течение 7 дней, хорошо переносились

как самцами, так и самками крыс. Уровни в плазме и концентрация (на основе площади под кривой концентрации в плазме [ППК] по времени 0 до 12 часов ($ППК_{0-12}$) показали линейное с дозой увеличение после однократного, 3 и 7 дней приема 2 и 4 мг/кг/день с более высокой концентрацией у самок по сравнению с самцами, и уровнями в плазме, которые не изменились во время лечения.

При дозе 8 мг/кг самцы крыс хорошо переносили 7-дневные повторные дозы тартрата соединения структуры (I), и концентрации тартрата соединения структуры (I) в плазме не изменялись во время лечения. Напротив, самки крыс, получавшие перорально винную соль соединения структуры (I) в дозе 8 мг/кг/день, проявляли связанную с лечением токсичность, включая снижение потребления пищи, потерю веса, бледность, диарею и мелену. Наиболее заметным гематологическим открытием в конце лечения было снижение лейкоцитов, связанное с тяжелой нейтропенией. Основными данными общей аутопсии самок крыс, умерщвленных на 8-й день, были увеличение селезенки, бледность почек и костного мозга, а также уменьшение абдоминального жира и мышечной массы (кахексия). Концентрации в плазме тартрата соединения структуры (I) у самок крыс при дозе 8 мг/кг были выше, чем у самцов крыс, и намного выше на 7 день по сравнению с днем 3, что указывает на эффект накопления дозы.

Фармакокинетические исследования тартрата соединения структуры (I) выявили быстрое всасывание со сходными значениями T_{max} у самцов и самок крыс во всех дозах и днях приема в диапазоне 0,5-2,0 часа. Величина ППК в плазме от момента времени 0 до момента последней концентрации (ППК0-Tlast) демонстрировала гендерный предрассудок, будучи примерно в 1,5-2 раза выше у самок по сравнению с самцами, за исключением самок, получавших высокие дозы через 7 дней дозирования, где ППК0-Tlast был в 5,8 раза выше. Максимальная наблюдаемая концентрация в плазме (Cmax) и ППК0-Tlast незачительно снижались при увеличении количества дней дозирования, за исключением самок с высокими дозами, у которых ППК0-Tlast не изменялась с 1 по 3 день и увеличивалась с 3 по 7 день примерно в 2 раза. После однократного приема и 3 дней приема ППК0-12 линейно увеличивалась между дозами как для самцов, так и для самок крыс. На седьмой день введения дозы соотношение между увеличивающейся дозой и ППК0-12 отклонялось от линейности у самок крыс из-за большего, чем ожидалось, увеличения ППК0-12 высокой дозы, что свидетельствует о накоплении дозы соединения структуры (I).

(ii) 28-*дневное повторное исследование токсичности пероральной дозы и токсикокинетики соединения структуры (I) у крыс.*

Оценивали потенциальную токсичность и токсикокинетику тартрата соединения структуры (I) при пероральном введении крысам ежедневно в течение 28 дней. Группы из 10 самцов и 10 самок крыс получали 0,5, 2 или 4 мг/кг/день тартрата соединения структуры (I), растворенного в 1% Tween 80/5% TPGS/воде (об./об./об.) через желудочный зонд один раз в день в течение 28 дней подряд. Контрольной группе (10 самцов/10 самок) вводили только носитель. Прогрессирование или регресс любых эффектов оценивали в

течение дополнительного 14-дневного периода без лечения в контрольной группе и у крыс, получавших дозу 2 и 4 мг/кг/день.

Наблюдений, связанных с лечением, не было зарегистрировано в течение 28 дней приема доз или 14-дневного периода без лечения в контрольной группе. Средняя масса тела и средняя прибавка массы тела самцов крыс в группе высоких доз были значительно ниже в конце лечения; однако у самок этой группы этого не наблюдалось.

Основным выводом токсикологической значимости при гематологических оценках было небольшое снижение количества ретикулоцитов в группе с высокой дозой, что может отражать снижение эритропоэза. Это открытие оказалось временным, поскольку количество ретикулоцитов в группе восстановления с высокой дозой было сопоставимо с контрольной группой. Оценка коагуляции, химического состава сыворотки и анализа мочи не выявила каких-либо результатов, связанных с лечением.

Соединение структуры (I) быстро абсорбировалось после перорального приема, при этом большинство значений T_{max} составляли 1-2 часа как у самцоы, так и у самок. Не наблюдалось никаких доказательств накопления дозы на 1, 15 и 28 дни приема. У самок значения C_{max} были выше, чем у самцов при всех дозах и во все дни приема, но не было различий в значениях $T_{max,}$ а более высокие значения C_{max} у самок не были связаны с различиями в клинике, клинической патологии и анатомо-гистопатологических открытиях. Период полувыведения ($t_{1/2(e)}$), определенный на основании имеющихся данных для групп доз 2 и 4 мг/кг, колебался от 2,3 до 8,9 часов и был одинаковым для обоих полов. Соединение структуры (I) показало высокий объем распределения, что свидетельствует о значительном распределении в тканях.

При исследованиях на этапе общей актопсии, проведенных в конце периода лечения и восстановления, не было обнаружено значительных токсикологических результатов. Единственным открытием, имеющим возможное токсикологическое значение для оценки веса органов, была более низкая масса щитовидной железы с паращитовидными железами у самцов крыс, получавших дозу тестируемого вещества; однако при гистопатологии щитовидной железы и паращитовидных желез не было обнаружено никаких отклонений от нормы.

Аномалии, обнаруженные в гистопатологии крыс, получавших высокие дозы, включали небольшие ранние кровоизлияния в мезентериальных лимфатических узлах у 5 животных и очаговые воспалительные инфильтраты и/или очаговая дольковая атрофия в поджелудочной железе у 3 контрольных и 7 животных, получавших высокие дозы. Эти результаты были неоднозначными, и нельзя было определить, связаны ли они с лечением тестируемыми соединениями. Хотя концентрация тестируемого вещества оказывала дозозависимое действие на массу тела самцов крыс в группе высоких доз и была связано с временным умеренным снижением эритропоэза у самцов и самок, по результатам гистопатологических оценок не был выявлен основополагающий механизм действия. Кроветворение, оцененное в тканях селезенки и костного мозга, было аналогичным в группах с высокой дозой и в контрольной группе.

На основании всех собранных данных, включая клинические наблюдения, массу тела, потребление пищи, офтальмоскопию, клиническую патологию, токсикокинетику, макроскопическую патологию и гистопатологию, доза, не приводящая к развитию наблюдаемых нежелательных эффектов (NOAEL) тартрата соединения структуры (I) после 28 дней повторного перорального дозирования у крыс, была определена как 2 мг/кг/день.

(iii) Токсичность однократной пероральной дозы и 7-дневной повторной пероральной дозы и фармакокинетическое исследование соединения структуры (I) на собаках

В этом исследовании был установлен уровень дозы для однократной пероральной дозы (часть A) и определены токсичность и ФК тартрата соединения структуры (I) (часть B), растворенного в 1% Tween 80 и 5% витамине E TPGS в воде через 7 дней повторного перорального приема у собак породы бигль. Дозы вводили через желудочный зонд в дозе 2 мл/кг после ночного голодания. Пища была предложена приблизительно через 1 час после дозирования.

Три группы собак, каждая из которых состояла из 1 самца и 1 самки, получали соединение структуры (I) (тартрат) в однократной дозе 0,25, 0,5 или 1 мг/кг и их наблюдали в течение 14 дней (Часть A). Слюноотделение наблюдали у кобеля с высокой дозой (1 мг/кг) приблизительно через 30 минут после введения. Рвота наблюдалась у суки с высокой дозой примерно через 60 минут после введения дозы. Все собаки завершили период лечения и пережили запланированный период наблюдения. Других наблюдений токсикологической значимости в гематологических и биохимических оценках не проводили.

В Части B исследования 3 группы собак, каждая из которых состоит из 2 самцов и 2 самок, получали тартрат соединения структуры (I) в течение 7 дней подряд в дозах 0,25, 0,75 или 1,25 мг/кг/день с последующим 7-дневным периодом наблюдения. Контрольная группа, состоящая из 1 самца и 1 самки, получала только носитель.

Все собаки завершили лечение и период наблюдения и выжили до запланированной аутопсии. Анализ всех полученных данных, включая клинические наблюдения, массу тела, потребление пищи, клиническую патологию, общее вскрытие и массу органов, не выявил значительной токсичности, связанной с лечением тестируемым соединением, у собак, которых перорально лечили тартратом соединения структуры (I) в дозе до 1,25 мг/кг/сут в течение 7 дней. Клинически, тартрат соединения структуры (I) вызвал рвоту при начальном уровне дозирования от 0,25 мг/кг/день до 1,25 мг/кг/день.

Фармакокинетические исследования тартрата соединения структуры (I) выявили быстрое всасывание со значениями T_{max}, одинаковыми у самцов и самок собак, во всех дозах и все дни приема, в интервале от 0,5 до 6 часов. Величина $ППК_{0\text{-}Tlast}$ в плазме не показала гендерного предрассудка. Значения перорального $t_{(1/2)e}$ и среднего времени пребывания (СВП) были немного больше после 7 дней приема. $ППК_{0\text{-}Tlast}$ увеличивалась линейно дозе независимо от половой принадлежности, а также после однократного и 7-

дневного приема. При используемых дозах было мало свидетельств накопления дозы соединения структуры (I) у собак породы бигль после 7 дней повторного введения.

(iv) Исследование токсичности фармакокинетически соединения структуры (I) при семидневном, три раза в день, многократном пероральном дозировании на собаках.

В этом исследовании оценивали токсичность и фармакокинетику тартрата соединения структуры (I) после 7 дней приема 3 раза в день при повторном пероральном приеме у собак. Это исследование проводили после 7-дневного повторения дозы, исследования повторной дозы один раз в день для подтверждения определения МПД тартрата соединения структуры (I) у собак.

Для достижения достаточного системного воздействия при высоких уровнях доз 2 группы по 2 самки получали тартрат соединения структуры (I), включенный в желатиновые капсулы, при уровнях доз 3 или 6 мг/кг/день (1 или 2 мг/кг/доза).

В группе, получавшей дозу 3 мг/кг/день, у обеих собак была рвота в течение большей части дней приема препарата, при этом время рвоты варьировалось от приблизительно 15 минут до 2 или 6 часов после введения дозы. Мягкий кал или диарея наблюдались с 3 или 7 по 14 день. Одна из собак потеряла 1,1 кг массы тела за 7-дневный период лечения и начала восстанавливать массу тела, прибавив 400 г, в течение 7-дневного периода восстановления. Другая собака набрала 300 и 600 граммов массы тела за 7 и 14 дней соответственно.

Обе собаки в группе, получавшей дозу 6 мг/кг/день (2 мг/кг/доза×3 дня), демонстрировали различные признаки токсичности в начале фазы лечения. Тяжесть клинических признаков увеличивалась, а состояние здоровья собак ухудшалось после каждой последующей дозы. Клинические признаки в основном включали рвоту, диарею, исхудание, анорексию, обезвоживание, апатию и потерю веса. Из-за ухудшения здоровья двум собакам в этой группе вводили дозу только два раза в день на 4-й день, а на 5-й и 6-й дни дозирование пропускали, но собакам вводили дозу на 7-й день для оценки ФК. После окончания лечения состояние животных продолжало ухудшаться, и их состояние не улучшалось, несмотря на поддержку жидкостной терапией, проведенной на 9-й день. Одна собака была найдена мертвой утром 10-го дня, а вторая собака была умерщвлена в тот же день в агональном состоянии.

Результаты клинической патологии у собак, получавших дозу 6 мг/кг/день на 8-й день, показали небольшое увеличение лейкоцитов (WBC), красных кровяных телец (RBC) и нейтрофилов; повышенные значения гемокрита и гемоглобина; и снижение количества ретикулоцитов у одной из собак. У другой собаки было увеличение лейкоцитов, эритроцитов, нейтрофилов, моноцитов и базофилов; повышенные значения гемокрита и гемоглобина; и снижение количества ретикулоцитов и тромбоцитов. У собак, которым вводили дозу 3 мг/кг/день, на 8-й день все гематологические параметры были в нормальных для собак пределах. У второй собаки наблюдалось небольшое увеличение количества эритроцитов; повышенные значения гемокрита и гемоглобина; и количество ретикулоцитов, хотя и в пределах нормы, было уменьшено по сравнению с количеством

до лечения.

На 14-й день гематологические результаты были в пределах нормы, за исключением небольшого увеличения количества ретикулоцитов у одной собаки этой группы. Единственными химическими параметрами сыворотки, которые были затронуты у собак, получавших дозу 3 мг/кг/день, были повышенный уровень АЛТ (почти вдвое превышающий нормальный верхний предел) у одной собаки и повышенный уровень триглицеридов у обеих собак.

Фармакокинетический анализ показал, что концентрация в плазме тартрата соединения структуры (I), измеренная с помощью ППК от времени 0 до бесконечности ($ППК_{0\text{-}inf}$), не было дозозависимым и было выше на 7-й день по сравнению с 1-м днем после третьего дозирования, и даже больше для дозы 6 мг/кг/день по сравнению с дозой 3 мг/кг/день. Эти наблюдения были сделаны, несмотря на возникшую рвоту и частичное прекращение приема дозы 6 мг/кг/день, предполагая, что может иметь место тенденция к накоплению дозы в последующие дни приема. Значения C_{max} были минимально изменены, в то время как значения T_{max} были больше при дозе 6 мг/кг/день. Значения $t_{(1/2)e}$ и СВП были немного больше при увеличении количества дней приема, что свидетельствует об изменении механизмов клиренса для соединения структуры (I) с последовательными днями приема.

Аутопсию проводили на собаках, которых внепланово умерщвляли и нашли мертвыми на 10-й день. При аутопсии у 1 собаки наблюдалии кахексию и темно-желтоватое водянистое содержимое нижних отделов кишечника. У другой собаки наблюдали кахексию, гиперемию железистой части желудка; геморрагический нижний отдел кишечника и прямую кишку; темно-красновато-черный цвет содержимого нижних отделов кишечника; и гиперемию коры и мозгового слоя почек.

МПД тартрата соединения структуры (I) была достигнута после дозирования 1 мг/кг/доза 3 раза в день (3 мг/кг/день), и собаки хорошо восстанавливались в течение 1 недели после прекращения лечения.

(v) 28-*дневное исследование токсичности при повторной пероральной дозе соединения структуры (I) на собаках породы бигль с последующим 14-дневным периодом восстановления.*

В этом исследовании изучали потенциальную токсичность и токсикокинетику тартрата соединения структуры (I) при пероральном введении собакам в течение 28 дней подряд. Также оценивали прогрессирование или регресс любых эффектов после 14-дневного периода восстановления без лечения. Двум группам собак (3 самца/3 самки) вводили тартрат соединения структуры (I), включенный в желатиновые капсулы, при следующих уровнях доз: 0,1, 0,5 мг/кг/день в течение 28 дней, а другой группе вводили дозу 1 мг/кг/день в течение первых 14 дней, а затем 2 мг/кг/день в течение оставшихся 14 дней периода лечения. В исследование была включена контрольная группа собак, которым вводили пустые желатиновые капсулы.

Все собаки завершили 28-дневный период лечения и выжили до запланированного

завершения для аутопсии. Клинические признаки, отмеченные в группе высоких доз в период лечения, включали рвоту, слюноотделение, диарею и/или мягкий кал. Рвота затронула всех собак в группе высокой дозы и наблюдалась у некоторых собак в группе средней дозы. Уменьшение потребления пищи наблюдалось у 1 самца и 1 самки; тогда как потеря веса наблюдалась у 1 из 5 самцов и 2 из 5 самок в группах с высокими дозами в течение 3 и/или 4 недель лечения и после увеличения дозы с 1 мг/кг до 2 мг/кг. Эти признаки не наблюдались в конце периода восстановления.

В конце лечения ни у одного из животных не было обнаружено офтальмоскопических открытий. Оценка данных клинической патологии (гематология, коагуляция, химический анализ сыворотки и анализ мочи) не выявила каких-либо результатов, явно относящихся к тестируемому соединению. Соединение структуры (I) давало дозозависимое увеличение концентраций в плазме. Соединение структуры (I) было количественно определено в некоторых образцах плазмы после дозирования 0,1 мг/кг, однако большинство концентраций в плазме было ниже нижнего предела количественного определения (0,2 нг/мл). Пропорциональность дозе и линейность концентраций в плазме соединения структуры (I) после перорального введения не могут быть хорошо охарактеризованы с учетом низких уровней в плазме при самой низкой дозе. Однако сравнение средних и высоких доз показывает, что концентрации в плазме у самцов и самок собак увеличивались приблизительно пропорционально дозе. Как при средних, так и при высоких дозах все уровни соединения структуры (I) перед введением были ниже предела количественного определения, а для высокой дозы период полувыведения был одинаковым во все дни приема, что свидетельствует об отсутствии накопления дозы. Анализ токсикокинетических данных выявил высокий клиренс соединения структуры (I) в плазме, который был вызван большим объемом распределения, что позволяет предположить, что тартрат соединения структуры (I) хорошо распределялся в тканях.

Результаты общей патологии, наблюдаемые у нескольких животных в группе высокой дозы, включали кровотечение в толстой кишке у 3 животных и слепой кишке у 1 животного, а также гиперемию привратника у 1 собаки и гиперемию прямой кишки у другой собаки. Кровоизлияния, вероятно, были агональными, но могли указывать на недавнее повреждение слизистой оболочки. У выздоравливающих животных в группах высокой и средней дозы общей картины не наблюдалось.

Не было явных различий в абсолютном и относительном весе органов между контрольной группой и группами тестируемого соединения (оба пола), за исключением нескольких случайных значимых различий: более высокий средний вес щитовидной железы с паращитовидными железами у самцов, получавших низкие дозы, и увеличение среднего веса размеров матки у самок группы 4 из-за физиологической лютеиновой фазы с гипертрофией эндометрия.

Гистопатологические открытия, имеющие возможное токсикологическое значение, включали изменения в тканях вилочковой железы и нижних отделов желудочно-кишечного тракта:

- Атрофия вилочковой железы была обнаружена в конце периода лечения у 3 из 6 животных, получавших высокие дозы, у 3 из 6 животных, получавших средние дозы, у 1 из 6 животных с низкой дозой и у 1 из 6 контрольных животных. Этот результат был также отмечен у 2 из 4 собак в группах как высокой, так и средней дозы в конце периода восстановления. Атрофия вилочковой железы является физиологической реакцией на стресс и ожидаемой находкой у молодых собак в начале половой зрелости, поэтому эти результаты считаются неспецифическими и косвенно связаны с желудочно-кишечными эффектами, связанными с лечением.

- Минимальная или легкая степень повреждения слизистой оболочки и воспаления в тонкой кишке наблюдалась в конце периода лечения у 1 собаки, получавшей среднюю дозу, 4 собак, получавших высокую дозу и 1 собаки в контрольной группе. В конце периода восстановления у 1 собаки в контрольной группе, 1 собаки, получавшей среднюю дозу и 2 собак, получавших высокую дозу были подобные умеренные остаточные изменения. Считалось, что повреждение слизистой оболочки тонкого кишечника, связанное с высокими дозами, вернулось к базовому уровню в конце 14-дневного периода восстановления.

- В конце периода лечения минимальная или легкая степень повреждения слизистой оболочки и воспаления слизистой оболочки толстой кишки гистологически наблюдалась у четырех животных в группе. получавшей высокую дозу. Эти ответы характеризовались повышенным количеством клеточного дебриса в нескольких железах, связанным с очаговыми инфильтратами нейтрофилов или очаговыми областями кровотечения в собственной пластинке. У одного контрольного животного также было минимальное повреждение желез толстой кишки без воспаления или кровотечения. Подобные результаты не наблюдались в толстом кишечнике ни у одного из животных группы, получавшей среднюю дозу. Минимальная дегенерация слизистых желез толстой кишки наблюдалась в конце периода восстановления у одной собаки, получавшей высокую дозу.

Оценка клинических наблюдений, оценка массы тела, потребление пищи, офтальмология, ЭКГ, клиническая патология, общее вскрытие и вес органов не выявили каких-либо клинических или токсикологических данных у собак, получавших дозу 0,1 мг/кг/день. За исключением рвоты, у собак, которым вводили тартрат соединения структуры (I) в дозе 0,5 мг/кг/день, не было обнаружено других неблагоприятных проявлений токсикологического значения. Эметогенное действие было бычным явлением, наблюдаемым у собак, которым вводят препараты, ингибирующие киназу, и может быть отчасти связано с более высокой восприимчивостью этого вида к этому классу препаратов.

Введение тартрата соединения структуры (I) в дозе 1 мг/кг/день в течение 14 дней с последующим введением 2 мг/кг/день в течение 14 дней было, по большей части, хорошо переносимым молодыми самцами и самками собак породы бигль, использованными в этом исследовании. Рвота была наиболее очевидным побочным эффектом, возникающим

в этой группе дозирования, и была более выражена при увеличении дозы до 2 мг/кг. Другие клинические признаки, включая слюноотделение, диарею или мягкий кал, а также снижение прироста массы тела, наблюдались в течение третьей и/или четвертой недели лечения. После прекращения лечения у выздоровевших животных не наблюдалось клинических признаков. Гистопатологические данные показали, что потенциальными целевыми органами токсичности были нижний отдел желудочно-кишечного тракта и вилочковая железа. По завершении периода лечения у выздоровевших животных не наблюдались клинические признаки или гистопатологические данные, за исключением атрофии вилочковой железы, которая рассматривалась как неспецифическая реакция, связанная со стрессом, и могла иметь место во время фазы лечения.

Пример 48: Фаза 1a/1b исследования повышения дозы, безопасности, фармакодинамики у пациентов с развитой солидной опухолью

В этом исследовании участвует достаточное количество пациентов для определения максимально переносимой дозы (МПД) тартрата соединения структуры (I) (примерно 40 пациентов) в фазе 1a исследования, а затем еще до 100 пациентов в части фазы 1b (расширение в когортах МПД и биопсии). Включенные в исследование пациенты получали исследуемое лекарственное средство, описанное здесь, один раз в день в течение первых 21 из 28 дней. Пациенты, успешно завершившие 4-недельный курс лечения без признаков значительной связанной с лечением токсичности или прогрессирующего заболевания, продолжали получать лечение с той же дозой и схемой дозирования.

Это исследование определяет МПД и ОДТ перорального ежедневного приема исследуемого препарата в течение первых 21 дня каждые 4 недели в диапазоне доз у пациентов с распространенными солидными опухолями, устанавливая фармакокинетику перорального приема и/или наблюдая пациентов на предмет противоопухолевой активности исследуемого препарата по объективной рентгенографической оценке. Например, фармакодинамика терапии включает оценку биомаркеров в опухолевых тканях, мононуклеарных клетках периферической крови (МКПК), плазме и сыворотке и определение in vivo маркеров дерегуляции AXL (у пациентов, проходящих лечение в МПД) путем: оценки биопсий опухоли у пациентов с легкодоступными низкоопасными опухолями (по данным местной интервенционной радиологии) и/или оценки иммунной функции и/или ответа с помощью иммуногистохимии (ИГХ), проточной цитометрии или других молекулярных методик.

Исследуемый препарат

Соединение структуры (I) является новым пероральным ингибитором, нацеленным на AXL киназу и обращающим мезенхимальный фенотип, связанный с распространенными формами рака. Доклинические исследования показали многообещающую противоопухолевую активность соединения структуры (I) в качестве единственного агента против различных типов опухолей как в исследованиях in vitro, так и in vivo. Это первое исследование на людях фазы 1a/1b с соединением структуры (I) проводили на пациентах с устойчивыми к лечению солидными опухолями. Исследование

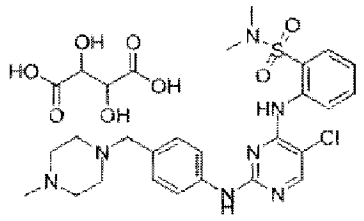
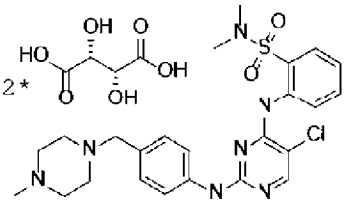
фазы 1a предназначено для определения максимально переносимой дозы (МПД) и определения профиля безопасности и рекомендуемой дозы соединения структуры (I) для фазы 2 (RP2D). После определения МПД 5 дополнительных когорт до 20 пациентов в каждой с определенными типами опухолей (всего до 100 дополнительных пациентов) включаются в МПД в исследование фазы 1b. Данные, собранные у пациентов, включенных в каждую из этих дополнительных когорт, использовали для подтверждения безопасности, изучения потенциальных биомаркеров и оценки потенциальных сигналов активности, когда соединение структуры (I) вводят конкретным группам пациентов, подвергавшихся интенсивному предварительному лечению, или вводят в сочетании с иммунотерапией или ингибитором тирозинкиназы (ИТК). Соединение структуры (I) вводили один раз в день перорально в течение 21 дня с последующим 7-дневным безмедикаментозным периодом. В некоторых случаях 28-дневный курс повторяди, если пациент продолжал показывать благоприятное действие и если соединение структуры (I) достаточно хорошо переносилось.

В этих клинических исследованиях исследовали два лекарственных вещества: монотартрат соединения структуры (I) и дитартрат соединения структуры (I) (форма A; «исследуемое лекарственное средство»). В результате дополнительных работ по развитию лекарственного вещества соединения структуры (I), включая тестирование полиморфных форм нескольких тартратов на растворимость, стабильность, воспроизводимость при приготовлении и другие физические характеристики, а также токсикологию и фармакокинетику (см. примеры 23-27), дитартрат лекарственного вещества, форма A, была выбрана для дальнейшего клинического использования («исследуемый препарат»). Все тестированные полиморфные формы проявляли аналогичные характеристики растворимости, токсичности и фармакокинетики по сравнению с лекарственным веществом, используемым в предыдущей клинической форме соединения структуры (I) (форма B). Дитартрат соединения структуры (I), который была выбран, основывался на воспроизводимости по сравнению с текущей клинической формой.

Краткое описание важных химических характеристик обеих форм лекарственных веществ представлена в Таблице 18.

Таблица 18. Номенклатура и важные химические характеристики клинических форм лекарственных веществ (форма B и форма A)

Химическая характеристика	*Клиническое лекарственное вещество (форма B)*	*Клиническое лекарственное вещество (форма A) («исследуемый препарат») (соотношение свободного основания:винной кислоты 1:2)*
Химическое название (IUPAC)	*моно*тартрат {[5-*хлор*-2-({4-[{4-*метилпиперазин*-1-*ил)метил]фенил}амино)пирими*	*ди*-(L)-*тартрат {[5-хлор*-2-({4-[{4-*метилпиперазин*-1-*ил)метил]фенил}амино)пирими*

	дин-4-ил]амино}-N, N-*диметилбензол*-1-*сульфонамида*	*дин-4-ил]амино}*-N, N-*диметилбензол*-1-*сульфонамида*
Описание	*Порошок от белого до кремового*	*Порошок от беловатого до желтого или коричневого цвета*
Химическая формула	$C_{28}H_{36}ClN_7O_8S$	$C_{32}H_{42}ClN_7O_{14}S$
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ВЕС	*666,15 Дальтонов*	*816,23 Дальтонов*
Структурная формула		

Исследуемый препарат поставляется в пероральной форме в виде порошка в твердых желатиновых капсулах (размер № 3 для доз 1, 4, 16 и 25 мг; размер № 0 для дозы 100 мг) и производится согласно действующей надлежащей производственной практике (cGMP) для исследования.

Капсулы с исследуемым лекарственным средством составляют 1 мг, 4 мг, 16 мг, 25 мг и 100 мг и упаковываются в круглые флаконы из полиэтилена высокой плотности с полиэфирной ватой в качестве наполнителей свободного пространства. Затем бутылки запечатывают, закрывают крышками, защищающими от доступа детей, и помещают в полиэтиленовые пакеты низкой плотности в качестве вторичной упаковки.

Клинические результаты

Фармакокинетические данные 9 пациентов, получавших первые 3 уровня доз с использованием формы B соединения структуры (I), продемонстрировали более высокие C_{max} и ППК соединения структуры (I) на 21 день по сравнению с днем 1 во время 1 курса, что свидетельствует о накоплении исследуемого лекарственного средства. Кроме того, соединение структуры (I) обнаруживалось перед дозированием на 21 день у 8 из 9 пациентов. Чтобы дополнительно охарактеризовать уровни соединения структуры (I) перед введением дозы, дополнительные образцы ФК собирают перед введением дозы в дни 8 и 15 1 курса; дни 1, 8, 15 и 21 2 курса; и день 1 3 курса.

Данные были собраны для поддержки целевого уровня соединения структуры (I). В настоящее время дозирование основано на стандартном подходе мг/м^2. Альтернативно можно использовать фиксированное дозирование. При использовании фиксированных доз по сравнению с дозами, зависящим от ППТ, может быть меньшая межиндивидуальная вариабельность воздействия лекарственного средства. Фиксированное дозирование начинается с МПД. Средняя доза рассчитывается на основе дозы, вводимой в когорте безопасности расширения МПД.

Доклинические исследования показали, что костный мозг, желудочно-кишечный тракт и вилочковая железа могут быть потенциальными целевыми органами токсичности. У крысы количество ретикулоцитов было снижено; однако эти результаты не наблюдались у собаки. У собаки было отмечено повреждение слизистой оболочки от минимального до умеренного, а также воспаление в тонкой кишке и слизистой оболочке толстой кишки. У собаки также была отмечена атрофия вилочковой железы. За исключением рвоты, других значимых побочных эффектов у собаки не наблюдалось. Доклинические токсикологические исследования GLP предполагают, что наблюдаемая токсичность была обратимой после периода восстановления продолжительностью 14 дней, за исключением атрофии вилочковой железы.

Пациентов с более 7 когорт с разными дозами (см., например, Таблицу 19 ниже) лечили тартратом соединения структуры (I) в этом исследовании (Форма B). Об ограничивающей дозу токсичности (ОДТ) не сообщали. Каждое из явлений 3-й и 4-й степени согласно Стандартным терминологическим критериям нежелательных явлений (CTCAE) Национального института рака у одного пациента, включали анемию, гипокальциемию, гипокалиемию, гипонатриемию, плевральный выпот, инфекцию мочевыводящих путей, асцит, гиперкалиемию, гипертензию, бактериальный перитонит, ишиас и обморок. Ни одно из этих событий не было признано связанным с исследуемым препаратом. Наиболее частые НЯ 1-й и 2-й степени (т.е. те, которые наблюдались у ≥3 пациентов каждое [13%]) включали тошноту, рвоту, утомляемость, анемию, диарею, гипоальбуминемию, снижение аппетита, гипомагниемию, тахикардию и тромбоцитопению. НЯ 1-й и 2-й степени, которые наблюдали у ≥3 пациентов каждое (13%) и оценивали как, по меньшей мере, возможно связанные с соединением структуры (I), включали диарею, тошноту, рвоту, дисгевзию и тромбоцитопению. В ходе исследования не было серьезных НЯ или смертей, которые бы считались связанными с исследуемым препаратом.

Таблица 19. Пациенты на исследовании со стабильным заболеванием не менее 4 циклов

Когорта	**Доза**	**Субъект**	**Гистология**	**# курса**	**Лучший ответ**
1	1,5 мг/м^2	102	Карцинома груди (ER+/- HER2-)	8	SD
2	3 мг/м^2	104	Нейроэндокринная карцинома	12	SD
3	6 мг/м^2	108	Аденокарцинома простаты	8	SD
4	9 мг/м^2	109	Аденокарцинома толстой кишки (мутация KRAS)	6	SD
4	9 мг/м^2	110	Меланома (дикий тип BRAF)	4	PR

4	9 мг/м^2	203	Холангиокарцинома	4	SD
5	12 мг/м^2	111	Карцинома матки	6	SD
5	12 мг/м^2	204	Панкреатический	8	SD
7	21 мг/м^2	115	НМРЛ	7 (продолжается)	

О дозоограничивающей токсичности (ОДТ) не сообщали. Каждое из явлений 3-й и 4-й степени согласно Стандартным терминологическим критериям нежелательных явлений (CTCAE) Национального института рака у одного пациента, включали анемию, гипокальциемию, гипокалиемию, гипонатриемию, плевральный выпот, инфекцию мочевыводящих путей, асцит, гиперкалиемию, гипертензию, бактериальный перитонит, ишиас и обморок. Ни одно из этих событий не было признано связанным с исследуемым препаратом. Наиболее частые НЯ 1-й и 2-й степени (т.е. те, которые наблюдались у ≥3 пациентов каждое [13%]) включали тошноту, рвоту, утомляемость, анемию, диарею, гипоальбуминемию, снижение аппетита, гипомагниемию, тахикардию и тромбоцитопению. НЯ 1-й и 2-й степени, которые наблюдали у ≥3 пациентов каждое (13%) и оценивали как, по меньшей мере, возможно связанные с соединением структуры (I), включали диарею, тошноту, рвоту, дисгевзию и тромбоцитопению. В ходе исследования не было серьезных НЯ или смертей, которые бы считались связанными с исследуемым препаратом.

План исследования

Это открытое, с увеличением дозы исследование безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики, фазы 1a/1b.

Фаза 1a - Повышение дозы

Начальная доза препарата составляет 1,5 мг/м^2 в течение 21 дня из 28 по стандартной схеме 3+3. Последовательные когорты из трех (3) пациентов получают повышенные дозы до установления МПД. При отсутствии ограничивающей дозу токсичности (ОДТ) дозу увеличивают с использованием модифицированной схемы увеличения дозы Фибоначчи.

Если у пациента наблюдается ОДТ, до трех дополнительных пациентов получают лечение на этом уровне дозы. Если дополнительных ОДТ не наблюдается в расширенной когорте из шести пациентов, дозу увеличивают в новой когорте из трех пациентов. Если два или более пациентов при данном уровне дозы испытывают ОДТ в течение первого цикла, то МПД было превышено, и в общей сложности до шести пациентов будут лечить на предыдущем более низком уровне дозы. Если 0 или 1 из 6 пациентов испытывают ОДТ на этом предыдущем более низком уровне дозы, эта доза объявляется МПД.

Фаза 1b - Расширение когорт МПД и биопсии

После определения МПД, 5 дополнительных когорт до 20 пациентов в каждой с

определенными типами опухолей (всего до 100 дополнительных пациентов) включают в МПД. Данные, собранные у пациентов, включенных в каждую из этих дополнительных когорт, используют для подтверждения безопасности, изучения потенциальных биомаркеров и оценки потенциальных сигналов активности, когда лекарство вводится конкретным группам пациентов, прошедших интенсивное предварительное лечение, или вводится в сочетании с иммунотерапией или ингибитором тирозинкиназы (ТКИ). Десять пациентов в каждой из этих 5 когорт должны дать согласие на взятие биопсии опухоли до и после введения дозы. Все пациенты, которым выполняется такая биопсия, входят в «Когорты биопсии».

Пациенты могут продолжать получать исследуемый препарат 28-дневными курсами в той же дозе, что и во время цикла 1, до тех пор, пока они не испытают неприемлемую токсичность или однозначное прогрессирование заболевания. Повышение дозы исследуемого препарата внутри пациента не допускается. Как только МПД установлено, дозировку меняют с ППТ-зависимой на фиксированную дозу на основе средней дозы, введенной в когорте безопасности расширения МПД.

Популяции пациентов

(i) *Фаза 1a - Повышение дозы*

Пациенты с гистологически подтвержденными солидными опухолями, у которых наблюдается прогрессирование заболевания после получения стандартной/одобренной химиотерапии или для которых не существует лечебной терапии.

(ii) *Фаза 1b - Расширение когорт МПД и биопсии*

Учитывая тот факт, что AXL широко распространен при различных солидных злокачественных новообразованиях, фаза увеличения дозы этого исследования при МПД включает пять когорт пациентов с конкретными типами опухолей для дальнейшей оценки безопасности и выявления возможных признаков эффективности при введении исследуемого препарата в качестве единственного агента в группах пациентов, подвергавшихся интенсивному предварительному лечению, или в комбинированных схемах лечения у пациентов с иммунотерапевтическими резистентными опухолями или EGFR+ НМКРЛ.

a. Пациенты с опухолями, которые прогрессировали после достижения наилучшего документированного ответа, по меньшей мере, стабильного заболевания (т.е. SD, PR или CR, задокументированные согласно iRECIST) после не менее 2 курсов (8 недель) иммунотерапии, и которые считаются подходящими для этого типа лечения.*

b. Пациенты с EGFR+ немелкоклеточным раком легкого (НМКРЛ), которые продемонстрировали недавнее прогрессирование после наилучшего документированного ответа, по меньшей мере, стабильного заболевания (т.е. SD, PR или CR, задокументированные согласно RECIST v1.1) на ≤2 колониях пероральных ИТК, и которые считаются подходящими для этого типа лечения.* Предварительная химиотерапия ± иммунотерапия разрешена, если пациент четко демонстрирует текущее прогрессирование по шкале EGFR ИТК.

c. Пациенты с колоректальной карциномой (КРК) с мутациями BRAF, KRAS или NRAS, для которых не осталось стандартной терапии.

d. Пациенты с устойчивым к лечению/рецидивирующим раком яичников, которые не поддаются лечению/резистентны к платине и которые ранее получали любое количество линий терапии.

e. Пациенты с меланомой с мутацией BRAF, прогрессирующие на иммунотерапии или комбинированном ингибиторе BRAF/MEK.

*Пациенты с резистентными к иммунотерапии опухолями или EGFR+ НМКРЛ, включенные в эти расширенные когорты, продолжают лечение, используя предыдущие схемы иммунотерапии или ИТК, соответственно, и добавляют исследуемый препарат. Обоснование основано на доклинических данных, которые показали, что это сочетание лучше у пациентов, у которых прогрессирование было на предыдущей иммунотерапии или ИТК.

Критерии включения:

Чтобы иметь право на участие в исследовании, пациенты должны соответствовать всем следующим критериям включения:

1. Пациенты, включенные в исследование фазы 1a, должны:

a. Имеют гистологически подтвержденный диагноз: метастатическая или прогрессирующая солидная опухоль.

б. Являются невосприимчивым или не переносят установленную терапию, которая, как известно, приносит клиническую пользу их состоянию.

2. Пациенты, включенные в исследование фазы 1b, должны соответствовать критериям одного из следующих типов опухолей:

a. Имеют опухоли, которые прогрессировали после достижения наилучшего задокументированного ответа, по меньшей мере, стабильного заболевания (т. е. SD, PR или CR, задокументированные согласно iRECIST) после не менее 2 курсов (8 недель) иммунотерапии и считаются подходящими для этого типа лечения.

б. Имеют EGFR+ НМКРЛ и продемонстрировали недавнее прогрессирование после наилучшего документированного ответа по меньшей мере, стабильного заболевания (т. е. SD, PR или CR, задокументированные согласно RECIST v1.1) на ≤2 курсах пероральных ИТК и считаются подходящими для этого типа лечения. Предварительная химиотерапия±иммунотерапия разрешена, если пациент четко демонстрирует текущее прогрессирование по шкале EGFR ИТК.

c. Имеют КРК с мутациями BRAF, KRAS или NRAS, для которых не осталось стандартной терапии.

d. Имеют трудноизлечимый/рецидивирующий рак яичников, не поддающийся лечению/резистентный к платине и ранее получали любое количество курсов терапии.

e. Имеют меланому с мутацией BRAF, которая не отвечает на иммунотерапию или сочетание ингибиторов BRAF/MEK.

3. Имеют одну или несколько опухолей, которые можно измерить или оценить, как

указано в модифицированных RECIST v1.1 или iRECIST.

4. Имеют эффективность согласно Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) (Всемирная организация здравоохранения [ВОЗ]) ≤1.

5. Ожидаемая продолжительность жизни ≥3 месяцев

6. Возраст ≥18 лет

7. Имеюь отрицательный тест на беременность (если женщина детородного возраста)

8. Имеют приемлемую функцию печени:

а. Билирубин ≤1,5х верхнего предела нормы (ВПН). Пациенты, получающие иммунотерапию, должны иметь уровень билирубина <3,0х ВПН.

б. Аспартатаминотрансфераза (AST/SGOT), аланинаминотрансфераза (ALT/SGPT) и щелочная фосфатаза ≤2,5х верхнего предела нормы (ВПН). При наличии метастазов в печень допускается ≤5х ВПН. Пациенты, получающие иммунотерапию, должны иметь уровни AST и ALT <5,0х ВПН.

9. Имеют приемлемую функцию почек:

а. Расчетный клиренс креатинина ≥30 мл/мин.

10. Имеют приемлемый гематологический статус:

а. Гранулоциты ≥1500 клеток/мм^3

б. Количество тромбоцитов ≥100000 (мкл/мм^3)

с. Гемоглобин ≥9 г/дл

11. Клинически значимых отклонений в анализе мочи нет.

12. Имеют приемлемый статус коагуляции:

а. Протромбиновое время (ПВ) в 1,5 раза больше нормы

б. Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) в 1,5 раза больше нормы

13. Являются бесплодным или согласны использовать адекватный метод контрацепции. Сексуально активные пациенты и их партнеры должны использовать эффективный метод контрацепции (гормональный или барьерный метод контроля рождаемости; или воздержание) до включения в исследование и в течение всего периода участия в исследовании, а также в течение не менее 30 дней после приема последней дозы исследуемого препарата (см. Раздел 4.6.3). Если женщина забеременела или подозревает, что беременна во время участия в этом исследовании, она должна немедленно сообщить об этом своему лечащему врачу.

14. Прочли и подписали одобренную IRB форму информированного согласия до начала любой процедуры, связанной с исследованием. (В случае если пациент проходит повторный скрининг на предмет участия в исследовании или поправка к протоколу изменяет уход за проходящим иммледование пациентом, необходимо подписать новую форму информированного согласия.)

15. Пациенты, включенные в каждую из пяти расширенных когорт, должны быть готовы рассмотреть возможность проведения биопсии перед исследованием и во время

исследования, если это безопасно и возможно с медицинской точки зрения, по данным местной интервенционной радиологии (от 3 до 5 основных образцов запрашиваются в каждый момент времени биопсии).

Критерии исключения:

Пациентам, отвечающим любому из этих критериев исключения, будет запрещено участвовать в этом исследовании:

1. Имеют сердечное заболевание III или IV класса сргласно New York Heart Association (NYHA), инфаркт миокарда в течение последних 6 месяцев до первого дня, нестабильную аритмию или признаки ишемии на электрокардиограмме (ЭКГ) или во время стресс-теста сердца в течение 14 дней до 1 дня исследования.

2. Имеют скорректированный интервал QT (QTcF, формула Фридерика) >450 мс у мужчин и >470 мс у женщин

3. Имеют судорожные расстройства, требующие противосудорожной терапии

4. Имеют симптоматическое метастатическое заболевание центральной нервной системы или заболевание, которое требует местной терапии, такой как радиационная терапия, хирургическое вмешательство или увеличение дозы стероидов, в течение 2 недель до первого дня

5. Имеют тяжелую хроническую обструктивную болезнь легких с гипоксемией (определяется как насыщение кислородом в состоянии покоя ≤88% при вдыхании воздуха в помещении)

6. Перенесли серьезную операцию, кроме диагностической, в течение 2 недель до первого дня.

7. Имеют активные неконтролируемые бактериальные, вирусные или грибковые инфекции, требующие системной терапии.

8. Беременны или кормят грудью

9. Получили курс радиационной терапии, хирургического вмешательства, химиотерапии или исследуемой терапии в течение 28 дней или 5 полужизней, в зависимости от того, что наступит раньше, до включения в исследование (6 недель для нитрозомочевины или митомицина С)

a. Этот критерий исключения не применим к пациентам с EGFR+ НМКРЛ или опухолями, устойчивыми к иммунотерапии, которые включены в когорты расширения МПД.

10. Не желают или не могут соблюдать процедуры, требуемые в этом протоколе

11. Знают об инфицировании вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), гепатитом В или гепатитом С. Пациенты с хроническим гепатитом в анамнезе, который в настоящее время неактивен, имеют право на участие

12. Имеют серьезное незлокачественное заболевание (например, гидронефроз, печеночную недостаточность или другие состояния), которые могут поставить под угрозу цели протокола, по мнению исследователя и/или спонсора.

13. В настоящее время получают любой другой исследуемый агент

14. Проявили аллергические реакции на подобное структурное соединение, биологический агент или состав.

15. Перенесли значительные операции на желудочно-кишечном тракте, которые могут нарушить абсорбцию или привести к синдрому короткой кишки с диареей из-за мальабсорбции.

16. Имеют в анамнезе тяжелые побочные реакции (например, реакцию гиперчувствительности, анафилаксию) на сульфаниламиды.

17. Пациенты, которым назначена иммунотерапия или схемы ИТК плюс исследуемый препарат, не должны в настоящее время принимать стероиды *в* высокой дозе (т.е. физиологической дозе, приблизительно эквивалентной 15 мг/день преднизона).

Оценки исследования (перед дозированием)

Скрининг/исходный период (в течение 14 дней до первой дозы)

Следующие действия и оценки выполняются в течение 14 дней до введения первой дозы исследуемого препарата:

- Подписанное информированное согласие

- Сбор и документация полного анамнеза, включая гистологически подтвержденный диагноз прогрессирующей метастатической или прогрессирующей солидной опухоли и все другие измерения заболевания и симптомов заболевания, включая степень опухолевой нагрузки, рентгенологическую оценку, например, компьютерную томографию (КТ) грудной клетки, брюшной полости, таза; соответствующие опухолевые маркеры (например, PSA, CA19-9).

- Полное физическое обследование, включая рост (см) и вес (кг)

- Запись жизненно-важных показателей (температуры, частоты сердечных сокращений, систолического и диастолического артериального давления)

- Оценка статуса эффективности (PS) по Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)

- Получение электрокардиограммы (ЭКГ) в 12 отведениях, включая оценку интервала QTcF

- Сбор крови для оценки лабораторных показателей:

- Гематология: общий анализ крови (ОАК) с дифференциалом и подсчетом тромбоцитов.

- Химический состав сыворотки

- Статус коагуляции: протромбиновое время (ПВ) и активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ)

- Сбор образца мочи для полного анализа мочи.

- Сбор образца мочи или сыворотки для теста на беременность с бета-хорионическим гонадотропином человека (β-ХГЧ) для женщин с детородным потенциалом.

- Взятие предварительной биопсии опухоли у пациентов, включенных в когорты биопсии.

- «Когорты биопсии» включают пациентов, включенных в пять дополнительных когорт МПД, которые согласны пройти обязательную биопсию опухоли до и после введения дозы (от 3 до 5 основных образцов требуется в каждой временной точке биопсии).

- Запись всех сопутствующих лекарств, включая все рецептурные, безрецептурные препараты и пищевые добавки, за последние 14 дней.

В течение 72 часов до первой дозы 1 курса

Следующие действия и оценки выполняются в любое время в течение 72 часов до введения первой дозы (в день 1) исследуемого препарата:

- Полное физическое обследование, включая вес (кг) и расчет ППТ

- Сбор крови для оценки лабораторных показателей: гематология и химический состав сыворотки

- Сбор образца мочи или сыворотки для теста на беременность β-ХГЧ для женщин детородного возраста.

- Сбор крови на МКПК, плазму и сыворотку для оценки биомаркеров.

- Получение опухолевой ткани из архива

- Запись всех сопутствующих лекарств, включая все рецептурные, безрецептурные препараты и пищевые добавки.

Необходимо просмотреть все критерии включения/исключения и определить, соответствует ли пациент всем критериям приемлемости для включения в исследование. Получить разрешение Медицинского наблюдателя (или назначенного им лица) на регистрацию пациента.

Исследовательское лечение

Дозировку исследуемого препарата (тартрат) пересчитывют в начале каждого нового цикла лечения, чтобы отразить изменения в площади поверхности тела (ППТ), которые могли произойти, но останутся неизменными для всех процедур в рамках цикла лечения. Доза округляется в меньшую сторону, если рассчитанное число <0,5, до ближайшей достижимой дозы в зависимости от количества исследуемого препарата в капсулах. Доза округляется до следующего уровня, если расчетная доза ≥0,5, до ближайшей достижимой дозы на основе имеющейся прочности капсулы. Дозы для пациентов корректируют только в том случае, если наблюдается увеличение или уменьшение массы тела на ≥10% по сравнению с исходным уровнем.

После определения МПД в расширенной когорте безопасности исследуемый препарат (дитартрат) вводят в виде фиксированной дозы, а не в соответствии с ППТ.

Исследуемый препарат вводят перорально один раз в день в течение 21 дня, затем 7 дней без приема препарата (каждый курс=28 дней). Дозирование можно повторять каждый курс при отсутствии прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности. Исследуемый препарат следует принимать утром после ночного голодания, запивая до 200 мл или 7 жидких унций воды не менее чем за 1 час до приема пищи или других лекарств.

Поскольку отбор образцов ПК и ФД необходимо провести в течение первых двух курсов лечения, нужно приложить все усилия для обеспечения своевременного перехода от курса 1 к курсу 2 (т. е. без продолжительных задержек между циклами).

Оценка безопасности и эффективности исследуемого препарата в этом исследовании проводят в два этапа: Фаза 1a: Повышение дозы и фаза 1b: Расширение когорт МПД и биопсии

Фаза 1a (повышение дозы): Когорты из трех пациентов

Начальная доза составляет 1,5 мг/м^2 в течение 21 дня из 28 в 3 группах пациентов с использованием стандартной схемы 3+3. После того, как первый пациент в каждой когорте завершит 14 дней приема без ОДТ, второй и третий пациенты включаются одновременно в одну и ту же дозу. После того, как последний зарегистрированный пациент завершит 28-й день без наблюдения ОДТ и следующий более высокий уровень дозы соединения структуры (I) еще не был изучен, дозу увеличивают в соответствии с модифицированной схемой увеличения дозы Фибоначчи в новой когорте из 3 пациентов в соответствии с уровнями доз, указанными в таблице 20.

Таблица 20. Повышение дозы

Уровень дозы	**Предлагаемая суточная доза**	**Увеличение от предыдущей дозы**[a]	**Кол-во пациентов на когорту**
-1[b]	1 мг/м^2	-33%	3-6
1	1,5 мг/м^2	Начальная доза	3-6
2	3 мг/м^2	100%	3-6
3	6 мг/м^2	100%	3-6
4	9 мг/м^2	50%	3-6
5	12 мг/м^2	33%	3-6
6	16 мг/м^2	33%	3-6
7	21 мг/м^2	33%	3-6
8	28 мг/м^2	33%	3-6
9	37 мг/м^2	33%	3-6
10	49 мг/м^2	33%	3-6
11[c]	65 мг/м^2	33%	3-6

[a]В процессе исследования возможно добавление дополнительных и/или промежуточных доз.

[b]Уровень дозы -1 представляет лечебные дозы для пациентов, которым требуется снижение дозы по сравнению с начальным уровнем дозы. Он также будет служить более низким уровнем дозы, если уровень начальной дозы изначально связан с неожиданной или неприемлемой токсичностью.

[c]При наличии клинических показаний можно исследовать уровни доз выше 65

мг/м^2.

Если ОДТ наблюдается у 1 из 3 пациентов при данном уровне дозы, до 3 дополнительных пациентов включаются и получают лечение на этом уровне дозы. Когда до 3 дополнительных пациентов добавляют к заданному уровню дозы, если только 1 из этих 6 пациентов испытывает ОДТ, доза увеличивается до следующего уровня дозы. Если ≥2 из 3-6 пациентов на этом уровне дозы испытывают ОДТ, доза уменьшается до предыдущего (более низкого) уровня, и 3 дополнительных пациента будут включены в этот уровень дозы.

Если 0 или 1 пациент из любых 6 пациентов испытывает ОДТ, но следующий более высокий уровень дозы уже изучен, тогда текущая доза объявляется МПД, и исследование переходит к фазе 1b. МПД определяется как доза, при которой ≤1 из 6 пациентов испытывают ОДТ во время цикла 1, а следующая более высокая доза показывает как минимум 2 из 36 пациентов, испытывающих ОДТ во время 1 курса.

Фаза 1b: Когорты расширения МПД и биопсии

После определения МПД 5 дополнительных когорт до 20 пациентов в каждой (всего 100 дополнительных пациентов) с различными характеристиками заболевания, перечисленными ниже, включаются и проходят лечение в исследовании фазы 1b. Исследуемый препарат вводят в виде фиксированной дозы вместо **ППТ.** Данные, собранные у пациентов, включенных в каждую из этих дополнительных когорт, используют для подтверждения безопасности, изучения потенциальных биомаркеров и оценки потенциальных сигналов активности, когда исследуемое лекарство вводится конкретным группам пациентов, подвергшихся тщательному предварительному лечению, или назначается в сочетании с иммунотерапией или ИИ. Десять пациентов в каждой из этих пяти расширенных когорт должны дать согласие на биопсию опухоли до и после введения дозы. Все пациенты, у которых берут такую биопсию, входят в «Когорты биопсии». Пять отдельных расширенных когорт, зарегистрированных и проходивших лечение с МПД, описаны в разделе «Популяция пациентов» выше.

Управление токсичностью и изменение дозировки

Управление токсичностью

Побочные эффекты можно лечить с помощью сопутствующих лекарств в соответствии с клиническими указаниями главного исследователя. Все сопутствующие лекарства записываются в источнике и в соответствующей ИРД.

Побочные эффекты, имеющие интенсивность от умеренной до тяжелой, которые *возможно*, *вероятно* или *определенно* связаны с лечением исследуемыми препаратами, могут привести к прекращению приема исследуемого препарата у пораженного исследуемого пациента. Такое прекращение будет рассмотрено Медицинским наблюдателем спонсора как можно раньше. После рассмотрения Медицинским наблюдателем спонсора исследуемый пациент может быть навсегда исключен из исследования в зависимости от характера и серьезности события.

Ограничивающая дозу токсичность (ОДТ)

ОДТ определяется как любое из следующих событий, наблюдаемых в рамках курса 1, независимо от отнесения, за исключением случаев, когда они явно и неопровержимо связаны с основным заболеванием или внешними причинами (такими как прогрессирующее заболевание):

- Фебрильная нейтропения 3 степени и выше
- Абсолютное число нейтрофилов (АЧН) 4 степени в течение ≥7 дней подряд
- Тромбоцитопения 4 степени или тромбоцитопения 3 степени с клинически значимым кровотечением или требующая переливания тромбоцитов
- Не гематологические НЯ 3 или 4 степени, включая тошноту, рвоту, диарею и электролитный дисбаланс, сохраняющиеся более 48 часов, несмотря на оптимальное медицинское лечение
- Задержка дозирования ≥2 недель из-за нежелательных явлений, возникающих при лечении или связанных с ними плохих значений лабораторного тестирования

Изменение дозы

Во время курса 1 доза исследуемого препарата не уменьшается. Дозы исследуемого препарата могут быть скорректированы для пациентов, которые получали несколько курсов исследуемого препарата. Снижение дозы на один уровень допускается в зависимости от наблюдаемой токсичности, которая произошла во время предыдущего курса. Повторное повышение дозы не допускается для любого пациента, у которого ранее было снижение дозы из-за токсичности или задержки выздоровления. Все изменения дозы необходимо обсудить и согласовать с Медицинским наблюдателем.

Если у пациента проявляется токсичность, он может продолжить прием исследуемого препарата, как указано в таблице 21.

Таблица 21. Руководство по корректировке дозы в зависимости от токсичности

НЯ, связанные с лекарством	**Действие**
1 степень	Текущий уровень дозы
2 степень	Исследователь может снизить дозу на 1 уровень дозы с согласия Медицинского наблюдателя.
3 степень*	Воздержитесь от приема, а затем уменьшите дозу на 1 уровень после выздоровления до степени ≤1 с согласия Медицинского наблюдателя.
4 степень	Исследователь и Медицинский наблюдатель проводят обзор, чтобы определить, может ли пациент продолжить исследование с соответствующим снижением дозы после выздоровления до степени 1.

* Исключая краткую (на основании заключения исследователя) рвоту или диарею 3 степени при неоптимальном лечении. Первоначально выполняется снижение дозы до

следующего более низкого тестируемого уровня. Если во время одного или нескольких курсов при новом уровне снижения дозы проявляются дальнейшие токсические эффекты, дальнейшее снижение не допускается, и пациента следует исключить из исследования.

Пациенты, у которых наблюдается ОДТ, должны прекратить участие в исследовании, если исследователи и медицинский наблюдатель не определят, что в наилучших интересах пациента продолжить снижение дозы и только после восстановления токсичности до степени 2 или выше.

Снижение дозы требуется для пациентов, у которых задержка лечения превышает 2 недели из-за отсутствия выздоровления от гематологической или не гематологической токсичности, даже если критерии ОДТ не выполняются. Последующее повторное лечение пациентов, которые не могут получить лечение после двухнедельной задержки и которые в конечном итоге выздоравливают, должно определяться с учетом потенциальной пользы/риска для отдельного пациента. Кроме того, для пациентов с токсичностью, не соответствующей критериям ОДТ, разрешено снижение дозы.

Для пациентов, включенных в исследование фазы 1b, получающих комбинированную терапию (например, предыдущую иммунотерапию или схему ИТК плюс исследуемый препарат), изменять их схемы иммунотерапии или схемы ИТК следует в соответствии с полной информацией о назначении каждого утвержденного препарата.

Сопутствующие лекарства и методы лечения

Предыдущие методы лечения

Пациенты, проходящие данное лечение, могут пройти один или несколько предыдущих курсов лечения.

Сопутствующие терапии

Сопутствующими терапиями являются любые новые или существующие лекарства или терапии, которые принимает пациент, включая:

- Лекарства, включая, помимо прочего, рецептурные, безрецептурные препараты, противозачаточные таблетки/пластыри/гормональные устройства и гомеопатические препараты.
- Немедикаментозную терапию, включая, помимо прочего, термические/лазерные/радиационные процедуры, витамины, лекарственные травы/добавки.

Во время процесса скрининга (за 14 дней до ожидаемой первой дозы исследуемого препарата) информация обо всех сопутствующих методах лечения, лекарствах и процедурах записывается в исходных документах и соответствующих РКП вместе с диагнозом или причиной использования.

После того, как пациент получит первую дозу исследуемого препарата, запись сопутствующей терапии ограничивается любыми новыми лекарствами или модификациями существующих лекарств, принимаемых для лечения нежелательного явления (НЯ). Эти способы лечения регистрируются в исходных документах и соответствующих РКП вместе с диагнозом или причиной использования. Те способы

лечения, которые используются для лечения нежелательного явления, должны быть связаны с НЯ, а также должна быть заполнена документация по НЯ.

Разрешенные методы лечения

Сопутствующие лекарственные препараты, необходимые для здоровья и благополучия пациента и не мешающие оценке результатов исследования, разрешены во время исследования по усмотрению исследователя. Это включает использование соответствующих лекарств для лечения НЯ и/или сопутствующих заболеваний под руководством главного исследователя. Все такие способы лечения должны быть зарегистрированы в источнике и в соответствующей РКП.

Лечение гемопоэтическими колониестимулирующими факторами роста, такими как гранулоцитарный колониестимулирующий фактор или гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, не начинают во время курса 1, если у пациента нет ОДТ. Начало лечения эритроид-стимулирующими агентами не может начаться в течение первого курса терапии. Если пациент получал постоянную дозу эритроид-стимулирующего агента, он может продолжать использовать агент в той же дозе во время курса 1 и последующих курсов.

Пациенты, получающие иммунотерапию в сочетании с исследуемым препаратом, могут получать сопутствующие стероиды для лечения НЯ иммунного ответа по усмотрению исследователя.

Запрещенные методы лечения

Следующие препараты исключены из одновременного приема всеми пациентами:

- Противоопухолевые методы лечения (химиотерапия, радиационная терапия, иммунотерапия) в течение месяца до первого введения исследуемого препарата и во время курса исследуемого лечения. Пациенты с EGFR+ НМКРЛ или резистентными к иммунотерапии опухолями, включенные в исследование фазы 1b, продолжают лечение, используя свои предыдущие схемы иммунотерапии или ИТК, соответственно, и добавляют исследуемый препарат.

- Метаболизаторы CYP2C19: Пациенты, получавшие метаболизаторы CYP2C19 до начала лечения, должны находиться под тщательным наблюдением. Если возможно, исследователь должен прекратить лечение пациента субстратом CYP2C19 до первой дозы или, как минимум, перейти на альтернативное, но эквивалентное лечение, которое не является метаболизатором CYP2C19. Если пациенту необходимо оставаться на метаболизаторе CYP2C19, лечение исследуемым препаратом следует проводить осторожно, а за пациентом внимательно наблюдать на протяжении всего исследования.

- Пациенты не должны принимать антагонисты Н2-рецепторов, такие как циметидин, ранитидин и фамотидин, или любые ингибиторы протонной помпы, такие как омепразол, лансопразол, эзомепразол и пантопразол. Пациенты должны прекратить прием этих лекарств в течение 7 дней до начала лечения.

Требования к контролю над рождаемостью для фертильных пациентов

Сексуально активные пациенты и их партнеры должны использовать эффективный

метод контрацепции, связанный с низким процентом неудач, до включения в исследование, на время участия в исследовании и в течение 30 дней после приема последней дозы исследуемого препарата. Следующие средства считаются эффективными противозачаточными средствами: (1) оральные противозачаточные таблетки; (2) презерватив плюс спермицид; (3) диафрагма плюс спермицид; (4) воздержание; (5) пациент или партнер хирургически стерильны; (6) пациент или партнер более 2 лет в постменопаузе; или (7) инъекционный или имплантируемый агент/устройство.

Оценка лечения

(i) КУРС 1

День 1 (и если указано иное):

- Запись жизненно важных показателей (температуры, частоты сердечных сокращений, систолического и диастолического артериального давления) до первой дозы.

- Получение исходных признаков и симптомов до первой дозы

- Снятие ЭКГ в 12 отведениях, включая оценку интервала QTcF:

Для пациентов фазы 1a: Временные точки ЭКГ, которые следует включать непосредственно перед введением первой дозы; через 0,5, 1, 2 часа (±10-минутное окно для каждой временной точки) и через 4 часа (±20-минутное окно) после введения дозы

Для пациентов фазы 1b: Временные точки ЭКГ для первых 3 пациентов, включенных в когорты с устойчивостью к иммунотерапии и EGFR+ НМКРЛ, которые следует включать непосредственно перед введением первой дозы; через 0,5, 1 и 2 часа (±10-минутное окно для каждой временной точки); и через 4 часа (±20-минутное окно) после дозирования.

Все остальные пациенты фазы 1b: Снятие ЭКГ в 12 отведениях, включая оценку интервала QTcF только перед введением дозы

- Сбор крови на МКПК, плазму и сыворотку для оценки в соответствии с графиком, приведенным в разделе 7.4.

- Сбор крови для анализа параметров ФК

Ежедневно в дни 1-21

- Инструктаж пациентов по принятию исследуемого препарата перорально каждый день в дни 1-21.

- Инструктаж пациентов по записи даты и времени приема дозы в дневнике дозирования.

Еженедельно (8, 15, 22 дни [±3 дня])

Следующие действия и оценки выполняются еженедельно (или как указано иначе) во время курса 1:

- На 8 и 22 день сбор крови на МКПК, плазму и сыворотку для оценки биомаркеров в соответствии с графиком, приведенным в разделе 7.4.

- Проведение сокращенного медицинского осмотра

- Запись жизненно важных показателей (температуры, частоты сердечных сокращений, систолического и диастолического артериального давления)

- Сбор крови для оценки лабораторных показателей: Гематология; Химический состав сыворотки

- На 8, 15 и 21 день сбор крови для анализа ФК-параметров.

- Оценка нежелательных явлений (НЯ)

- Запись все сопутствующих лекарств, включая все рецептурные, безрецептурные препараты и пищевые добавки.

(ii) КУРС 2

Ежедневно в дни 1-21

- Инструктаж пациентов по принятию исследуемого препарата перорально каждый день в дни 1-21.

- Инструктаж пациентов по записи даты и времени приема дозы в дневнике дозирования.

1 день

Следующие действия и оценки выполняются в день 1 курса 2:

- Проведение полного физического обследования, включая вес (кг) и расчет ППТ

- Оценка ECOG PS

- Сбор образца мочи или сыворотки для теста на беременность β-ХГЧ для женщин детородного возраста.

- Снятие ЭКГ в 12 отведениях непосредственно перед дозированием, включая оценку интервала QTcF.

- Сбор крови на МКПК, плазму и сыворотку для оценки биомаркеров.

- Сбор крови для анализа параметров ФК

Еженедельно (дни 1, 8, 15, 22 [±3 дня])

Следующие действия и оценки выполняются еженедельново время курса 2:

- Краткий медицинский осмотр (дни 8, 15, 22)

- Запись жизненно важных показателей (температуры, частоты сердечных сокращений, систолического и диастолического артериального давления)

- Сбор крови для оценки лабораторных показателей: Гематология; Химический состав сыворотки

- На 8, 15 и 21 дни сбор крови для анализа параметров ФК в соответствии с графиком, приведенным в разделе 7.3.

- Оценка нежелательных явлений (НЯ)

- Запись все сопутствующих лекарств, включая все рецептурные, безрецептурные препараты и пищевые добавки.

День 28 (-4 дня):

- Оценка ответа и опухолевой нагрузки с помощью RECIST v1.1 и iRECIST, включая соответствующие опухолевые маркеры, используя те же способы, что и на исходном уровне.

- Взятие биопсии опухоли после введения дозы у пациентов, включенных в когорты биопсии. В идеале биопсия должна быть получена из того же места, что и

биопсия перед дозой, если это возможно и безопасно, и из метастатического поражения, а не из первичной опухоли. На каждую временную точку биопсии требуется от трех до пяти (от 3 до 5) проб.

(iii) КУРСЫ ≥3

Пациенты могут продолжать получать исследуемый препарат 28-дневными курсами в той же дозе, что и во время курса 1, до тех пор, пока они не испытают неприемлемую токсичность или однозначное прогрессирование заболевания. Перед тем, как перейти к следующему курсу с нечетным номером, необходимо оценить ответ и опухолевую нагрузку и подтвердить продолжение ответа/клиническую пользу.

Ежедневно в дни 1-21

- Инструктаж пациентов по принятию исследуемого препарата перорально каждый день в дни 1-21.

- Инструктаж пациентов по записи даты и времени приема дозы в дневнике дозирования.

1 день

Следующие действия и оценки выполняются в день 1 курса 3 и всех последующих курсов лечения:

- Проведение полного физического обследования, включая вес (кг) и расчет ППТ

- Оценка ECOG PS

- Сбор образца мочи или сыворотки для теста на беременность β-ХГЧ для женщин детородного возраста.

- Снятие ЭКГ в 12 отведениях непосредственно перед дозированием, включая оценку интервала QTcF (только цикл 3).

- Сбор крови на МКПК, плазму и сыворотку для оценки биомаркеров.

- Сбор крови для анализа параметров ФК (только цикл 3)

День 1 и 15 (±3 дня)

Следующие действия и оценки выполняются каждые две недели во время курса 3 и всех последующих курсов лечения:

- Краткий медицинский осмотр (день 15))

- Запись жизненно важных показателей (температуры, частоты сердечных сокращений, систолического и диастолического артериального давления)

- Сбор крови для оценки лабораторных показателей: Гематология; Химический состав сыворотки

- Оценка нежелательных явлений (НЯ)

- Запись все сопутствующих лекарств, включая все рецептурные, безрецептурные препараты и пищевые добавки.

День 28 (-4 дня)

Следующие действия и оценки выполняются в день 28 (-4 дня) каждого ЧЕТНОГО курса (т. е. курса 4, курса 6 и т. д.): Оценка ответа и опухолевой нагрузки с помощью RECIST v1.1 и iRECIST, включая соответствующие опухолевые маркеры, используя те же

методы, что и на исходном уровне.

Критерии оценки

Конечные точки безопасности

Переносимость и токсичность исследуемого перорального лекарственного средства оценивают путем оценки физического обследования, показателей жизненно важных функций, лабораторных исследований, запрошенных и не запрошенных побочных эффектов, включая ОДТ, и всех причин смертности.

Частоту возникновения нежелательных явлений, возникающих в связи с лечением, суммируют в пределах уровня дозы исследуемого лекарственного средства в соответствии с предпочтительным термином MedDRA и уровнями классов первичных системных органов. Аналогичные сводки делают для подмножеств НЯ, таких как (1) те, которые, по мнению врача, связаны с исследуемым лечением, и (2) серьезные нежелательные явления (СНЯ).

Другие стандартные оценки безопасности (например, клинические лабораторные параметры и показатели жизненно важных функций) суммируют по уровню дозы исследуемого препарата с использованием среднего, стандартного отклонения, медианы, минимального и максимального отклонений от исходных значений.

Конечные точки эффективности

Любую объективную реакцию на лечение исследуемым препаратом отмечают с помощью RECIST v1.1 (см., например, Eisenhauer et al. “New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1)” Eur J Cancer **2009**, 45, 228-247) определений ответа или руководства iRECIST (см., например, Seymour et al. “RECIST working group. iRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics.” Lancet Oncol **2017**, 18, e143-e152) для пациентов, получавших сопутствующую иммунотерапию во время исследования фазы 1b. Краткое описание представлено ниже.

(i) Критерии оценки ответа при солидных опухолях (RECIST), v1.1

Критерии ответа - оценка целевых поражений включает:

- Полный ответ (CR): Исчезновение всех целевых поражений. Любые патологические лимфатические узлы (как целевые, так и нецелевые) должны уменьшиться по короткой оси до <10 мм.

- Частичный ответ (PR): По меньшей мере, 30% уменьшение суммы диаметров целевых поражений, принимая в качестве основы исходные суммарные диаметры.

- Прогрессирующее заболевание (PD): По меньшей мере, 20% увеличение суммы диаметров целевых поражений, принимая в качестве основы наименьшую сумму в исследовании (включая исходную сумму, если она является наименьшей в исследовании). Помимо относительного увеличения на 20%, сумма должна также демонстрировать абсолютное увеличение не менее чем на 5 мм. (Примечание: появление одного или нескольких новых очагов поражения также считается прогрессированием).

- Стабильная болезнь (SD): нет ни достаточного уменьшения, чтобы претендовать

на PR, ни достаточного увеличения, чтобы претендовать на PD, принимая в качестве основы самые низкие суммарные диаметры во время исследования.

Критерии ответа - Оценка нецелевых поражений включает:

- Полный ответ (CR): Исчезновение всех нецелевых очагов и нормализация уровня онкомаркера. Все лимфатические узлы должны иметь непатологический размер (короткая ось <10 мм).

- Не CR/не PD: Сохранение одного или нескольких нецелевых очагов поражения и/или сохранение уровня опухолевых маркеров выше нормальных пределов.

- Прогрессирующее заболевание (PD): Однозначное прогрессирование существующих нецелевых поражений* (Примечание: появление одного или нескольких новых очагов также считается прогрессированием)

Хотя явное прогрессирование только «нецелевых» поражений является исключением, в таких обстоятельствах мнение лечащего врача должно преобладать, а статус прогрессирования должен быть позже подтвержден группой экспертов (или председателем исследования).

(ii) Критерии оценки ответа на солидные опухоли для испытаний с использованием иммунотерапии (iRECIST)

Феномен, известный как «псевдопрогрессия», может возникать у пациентов с солидными опухолями, получающих иммунотерапию (например, ингибиторы контрольных точек и другие иммуномодулирующие агенты). При псевдопрогрессии объем опухоли может временно увеличиваться в результате инфильтрации иммунных клеток, а не истинного прогрессирования заболевания. Члены рабочей группы RECIST, наряду с вкладом нескольких фармацевтических компаний и регулирующих органов в США и Европе, разработали рекомендации iRECIST для оценки изменений в опухолевой нагрузке у этих пациентов. Подобно традиционным рекомендациям RECIST, iRECIST требует дополнительной визуализации, показывающей продолжающийся рост опухоли через 4-8 недель после первоначального доказательства увеличения опухолевой нагрузки, чтобы болезнь считалась прогрессирующей (стабильное заболевание не считается прогрессированием).

Фармакокинетические конечные точки

Концентрации в плазме исследуемого перорального препарата суммируются описательной статистикой, включая среднее значение, n, стандартное отклонение, коэффициент вариации, минимум, максимум и медианное значение. Перед анализом исследуемых образцов документируют чувствительность, специфичность, линейность и воспроизводимость анализа.

Анализы ФК в плазме для перорального исследуемого лекарственного средства и известных метаболитов, если таковые имеются, и пропорциональность доз будут определять в дни 1 и 21 курса 1 у всех пациентов, включенных в исследование фазы 1a, а также пациентов, включенных в выбранные когорты исследования фазы 1b.

График ФК соблюдается для всех пациентов, включенных в исследование фазы 1a.

В исследовании фазы 1b этот график выборки ФК применяется только к пациентам с EGFR+ НМКРЛ или опухолями, устойчивыми к иммунотерапии, которые включены в когорты расширения в МПД и которые получают исследуемый препарат в сочетании с их предыдущей противоопухолевой терапией.

Фармакодинамические конечные точки

МКПК, плазму и сыворотку собирают для оценки активности исследуемого препарата в отношении прогнозирующих биомаркеров, включая, помимо прочего, GAS6 и AXL.

Биопсия опухоли перед введением дозы (в течение 14 дней до первой дозы) и биопсия опухоли после введения дозы (курс 2, день 28 [-4] дня) выполняют у 10 пациентов, включенных в каждую из 5 когорт расширения фазы 1b (когорты биопсии), для оценки действия исследуемого препарата на прогностические биомаркеры. Если биопсия перед дозой невозможна, вместо этого с одобрения спонсора может быть предоставлена соответствующая архивная ткань (от 3 до 5 отдельных образцов, собранных в течение 4 недель после скрининга). В идеале, биопсия после введения дозы должна быть получена из того же места, что и биопсия перед введением дозы, если это возможно и безопасно, и из метастатического поражения, а не из первичной опухоли. В каждую временную точку биопсии запрашиваются от трех до пяти (от 3 до 5) отдельных проб. Ткань опухоли исследуют с использованием различных методов для оценки изменений потенциальных биомаркеров после воздействия исследуемого препарата. Хотя эти анализы ФД считаются исследовательскими по своему характеру, они оцениваются в сочетании с фармакокинетическими параметрами, а также любыми сигналами эффективности и безопасности, чтобы увидеть, есть ли какая-либо корреляция с изменениями потенциальных биомаркеров.

У всех пациентов запрашивается архивная ткань опухоли (первичный и метастатический сайт[ы], если таковые имеются) для оценки потенциальных прогностических биомаркеров.

Нежелательные явления

Нежелательное явление (НЯ) определяется как любое нежелательное медицинское событие, связанное с применением лекарственного средства у людей, независимо от того, считается ли оно связанным с ним или нет. Следовательно, НЯ может быть любым неблагоприятным и непреднамеренным признаком (включая аномальные лабораторные данные), симптомом или заболеванием, временно связанным с применением лекарственного средства, независимо от того, связано ли оно с лекарственным средством или нет.)

Под подозрением на нежелательную реакцию подразумевается любое неделательное явление, причиной которого с большой вероятностью может быть лекарство. Для целей отчетности по безопасности исследуемого нового лекарственного средства (ИНЛ) «разумная возможность» означает наличие доказательств, позволяющих предположить причинно-следственную связь между лекарственным средством и

нежелательным явлением.

Неожиданное нежелательное явление или подозреваемая нежелательная реакция: Нежелательное явление или предполагаемая нежелательная реакция считаются неожиданными, если они не указаны в текущей брошюре исследователя или не указаны с наблюдаемой специфичностью или серьезностью; или не соответствуют информации о рисках, описанной в общем плане исследования (протокол клинического исследования).

Токсичность оценивают в соответствии с NCI CTCAE, версия 4.03. Когда степень NCI CTCAE недоступна, исследователь использует следующую классификацию токсичности: легкая, умеренная, тяжелая, опасная для жизни или смертельная.

Таблица 21А. Степени токсичности

1 СТЕПЕНЬ - Легкая:	Преходящий или легкий дискомфорт; отсутствие ограничений в деятельности; не требуется медицинское вмешательство/терапия.
2 СТЕПЕНЬ - Умеренная:	Ограничение активности от слабого до умеренного - может потребоваться некоторая помощь; не требуется или требуется минимальное медицинское вмешательство/терапия.
3 СТЕПЕНЬ - Тяжелая:	Заметное ограничение в деятельности, обычно требуется некоторая помощь; требуется медицинское вмешательство/терапия, возможна госпитализация.
4 СТЕПЕНЬ - Опасность для жизни:	Крайнее ограничение активности, требуется значительная помощь; угроза жизни (непосредственная опасность смерти); требуется значительное медицинское вмешательство/терапия, вероятна госпитализация или лечение в хосписе.
5 СТЕПЕНЬ - Смертельный исход	Приводит к смерти.

Связь нежелательного явления (НЯ) с исследуемым препаратом следует определять следующим образом:

Несвязанное	НЯ *явно не связано* с исследуемым агентом(ами).
Маловероятное:	НЯ *сомнительно связано* с исследуемым агентом(ами).
Возможное:	НЯ *может быть связано* с исследуемым агентом(ами).
Вероятное:	НЯ, *вероятно связано* с исследуемым агентом (ами)
Определенное:	НЯ *явно связано* с исследуемым агентом(ами).

Серьезное нежелательное явление (СНЯ) определяется как любой опыт,

предполагающий значительную опасность, противопоказание, побочный эффект или меры предосторожности. СНЯ включает:

- Любую смерть, или

- Любое опасное для жизни событие (т. е. пациент находится в непосредственной опасности смерти в результате события, когда оно произошло), или

- Любое событие, которое приводит к стойкой, значительной, серьезной или постоянной потере трудоспособности или требует вмешательства для предотвращения такой инвалидности, или

- Любое событие, которое требует стационарной госпитализации или продлевает госпитализацию, или

- Любая врожденная аномалия/врожденный дефект, или

- Любое значимое с медицинской точки зрения событие, которое может поставить под угрозу пациента или может потребовать вмешательства для предотвращения одного из других исходов, перечисленных выше.

Пример 49: Комбинированное исследование фазы 1/2 для изучения безопасности, фармакокинетики, фармакодинамики и клинической активности у пациентов с ранее леченным хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ)/малой лимфоцитарной лимфомой (МЛЛ)

Соединение структуры (I) (описанное в Примере 48 выше) является новым пероральным ингибитором, нацеленным на AXL киназу и обращающим вспять мезенхимальный фенотип, связанный с распространенными формами рака. Соединение продемонстрировало значительную активность одного агента в В-клетках ХЛЛ, взятых непосредственно от пациентов, даже если у пациента есть факторы высокого риска (например, делеции 17p/P53) или прогрессирование при применении других агентов (например, ибрутиниба). Это исследование предназначено для определения максимальной переносимой дозы (МПД), профиля безопасности и рекомендованной дозы фазы 2 (RP2D) исследуемого препарата (описанного в Примере 48 выше) при пероральном введении один раз в день в течение 28 дней в течение 28-дневного курса пациентам с ранее леченным ХЛЛ. В некоторых случаях курсы лечения повторяются, если у пациента сохраняется улучшение и если исследуемый препарат достаточно хорошо переносится.

Исследуемый препарат в пероральной форме поставляется в виде порошка в твердых желатиновых капсулах (размер № 3 для доз 1, 4, 16 и 25 мг; размер № 0 для дозы 100 мг), произведенных в соответствии с действующей надлежащей производственной практикой (cGMP) для исследовательского использования.

Капсулы с исследуемым лекарственным средством составляют 1 мг, 4 мг, 16 мг, 25 мг и 100 мг и упаковываются в круглые флаконы из полиэтилена высокой плотности с полиэфирной ватой в качестве наполнителей свободного пространства. Затем бутылки запечатывают, закрывают крышками, защищающими от доступа детей, и помещают в полиэтиленовые пакеты низкой плотности в качестве вторичной упаковки.

Ибрутиниб, одобренный фармацевтический продукт, поставляется из

коммерческих источников. Капсулы ибрутиниба для перорального применения поставляются в виде белых непрозрачных капсул, которые содержат 140 мг ибрутиниба в качестве активного ингредиента. Каждая белая непрозрачная капсула помечена черными чернилами «ibr 140 мг».

Цели фазы I исследования включают:

- Характеризацию профиля безопасности и токсичности исследуемого лекарственного средства при пероральном приеме один раз в день в течение 28 дней (каждый курс составляет 28 дней; период без приема лекарств) в следующих группах пациентов:

- *Группа 1 (монотерапия исследуемым препаратом):* пациенты с ХЛЛ/СЛЛ, которые не переносят или имеют прогрессирующее заболевание на антагонистах В-клеточных рецепторов, антагонистах BCL-2 или других исследуемых методах лечения ХЛЛ/МЛЛ.

- *Группа 2 (комбинированная терапия исследуемым препаратом и ибрутинибом*): пациенты с ХЛЛ/СЛЛ, у которых наблюдается прогрессирование на ибрутинибе, но лечащий врач считает продолжение терапии ибрутинибом в интересах пациента.

- Определение RP2D исследуемого препарата при пероральном введении по этой схеме определенным группам пациентов.

- Наблюдение за пациентами на предмет каких-либо доказательств противолейкозной активности исследуемого перорального препарата путем определения частоты объективного ответа ([ЧОО], т. е. скорости полного ответа [ПО] и частоты частичного ответа [ЧО] в определенных группах пациентов в соответствии с руководящими принципами, установленными на Международном семинаре по ХЛЛ в 2018 г. (IWCLL)

- Оценка фармакокинетики (ФК) исследуемого перорального лекарственного средства в определенных группах пациентов.

- Изучение потенциальных биомаркеров, относящихся к заболеванию, и фармакодинамики (ФД) перорального исследуемого лекарственного средства в определенных группах пациентов путем оценки аналитов, включая, но не ограничиваясь ими, растворимый AXL, экспрессию и фосфорилирование AXL, гены блокировки роста 6 (GAS6) и мезенхимные факторы транскрипции в образцах периферической крови и костного мозга

Цели исследования фазы II включают:

- Определение ЧОО в двух определенных группах пациентов в соответствии с руководящими принципами, установленными IWCLL в 2018 г.

- Определение длительности ответа (ДО, то есть времени от ответа опухоли до прогрессирования заболевания)

- Определение выживаемости без прогрессирования (ВБП, то есть времени от первой дозы до объективного прогрессирования опухоли или смерти)

- Определение показателя общей выживаемости (ОВ, т. е. времени от первой дозы

до смерти от любой причины)

- Изучение потенциальных биомаркеров, относящихся к заболеванию, и фармакодинамики (ФД) перорального исследуемого лекарственного средства в определенных группах пациентов путем оценки аналитов, включая, но не ограничиваясь ими, растворимый AXL, экспрессию и фосфорилирование AXL, гены блокировки роста 6 (GAS6) и мезенхимные факторы транскрипции в образцах периферической крови и костного мозга

Обоснование плана лечения

Начальная доза основана на тщательном обзоре токсикологических исследований GLP на крысах и собаках, а также на предварительных результатах исследования фазы 1 у пациентов с прогрессирующими метастатическими или прогрессирующими солидными опухолями (см. Пример 48). Соединение структуры (I) вводили перорально один раз в день в течение 28 дней в токсикологических исследованиях GLP. У крыс все результаты были обратимы или не считались клинически значимыми, и NOAEL был определен как 2 мг/кг или 12 мг/м^2. На основании токсикологических исследований на животных и исследований безопасности начальная доза соединения структуры (I) составляла 1,5 мг/м^2/день.

Учитывая клинический опыт, приобретенный в этом исследовании солидных опухолей, и отсутствие ограничивающей дозу токсичности (ОДТ), наблюдаемой в любой из первых 6 когорт, начальная доза тартрата соединения структуры (I) в группе 1 (монотерапия) является фиксированной дозой 25 мг. Начальная доза примерно на один уровень ниже, чем в текущем исследовании солидной опухоли фазы 1a (пример 48 выше). Пациенты группы 2 (комбинированная терапия) начинают с уровня дозы на один уровень ниже группы 1 или с фиксированной дозы 20 мг, чтобы гарантировать безопасность, в частности, при сочетании ибрутиниба и тартрата соединения структуры (I). Использование фиксированной дозы, а не зависимости от размера тела, особенно для перорально вводимых лекарств, является предпочтительным, поскольку это облегчает использование лекарства пациентами и врачами и снижает количество необходимых дозировок, улучшая соблюдение схемы лечения.

Поскольку тартрат соединения структуры (I) на сегодняшний день хорошо переносится в исследовании солидных опухолей, начальная доза 25 мг в группе монотерапии эквивалентна 700 мг (25 мг×28 дней, или 80% от текущей дозы в исследовании солидной опухоли). Начальная доза в комбинированной группе (т. е. тартрат соединения структуры (I) плюс ибрутиниб) составляет 20 мг, что является дополнительным снижением на 20% по сравнению с начальной дозой 25 мг в группе монотерапии. Информация о безопасности, полученная в исследовании солидных опухолей, вместе с более низкими начальными дозами, предложенными в этом исследовании, поддерживает предложенный непрерывный 28-дневный график дозирования.

Популяция пациентов

Взрослые пациенты с хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) и/или малой лимфоцитарной лимфомой (МЛЛ), которые:

1. не переносят или имеют прогрессирующее заболевание на антагонистах В-клеточных рецепторов, антагонистах BCL-2 или других исследуемых методах лечения ХЛЛ/МЛЛ (Группа 1; монотерапия); или

2. имеют прогрессирование заболевания на ибрутинибе, однако лечащий врач считает, что продолжение терапии ибрутинибом отвечает интересам пациента (группа 2; комбинированная терапия с ибрутинибом).

Дополнительные критерии включения

Чтобы иметь право на участие, пациенты должны соответствовать всем следующим критериям включения:

1. Возраст ≥18 лет

2. Имеют установленный патологически подтвержденный диагноз ХЛЛ/МЛЛ, требующий терапии в соответствии с рекомендациями IWCLL 2018 г.

3. Получили как минимум одну предшествующую терапию ХЛЛ/МЛЛ и могут быть отнесены к одной из двух групп пациентов:

- Группа 1 (монотерапия): Пациенты с ХЛЛ/МЛЛ, у которых наблюдается непереносимость или прогрессирование на антагонистах В-клеточных рецепторов и/или антагонистах BCL-2, или

- Группа 2 (комбинированная терапия с ибрутинибом): Пациенты с ХЛЛ/СЛЛ, у которых наблюдается прогрессирование болезни на ибрутинибе, но лечащий врач считает, что продолжение терапии ибрутинибом отвечает наилучшим интересам пациента.

4. Имеют статус эффективности согласно Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) ≤2

5. Имеют адекватную гематологическую функцию: (a) Абсолютное количество нейтрофилов (АНН) ≥500/мкл; (b) Количество тромбоцитов ≥30000/мкл; (c) Гемоглобин ≥8 г/дл при отсутствии переливаний в течение предыдущих 2 недель.

6.Имеют адекватную функцию органов: (a) клиренс креатинина ≥30 мл/мин; (b) уровень аланинаминотрансферазы (ALT)/аспартатаминотрансферазы (AST) ≤2,5 × верхний предел нормы (ВПН); (c) общий уровень билирубина ≤1,5 × ВПН (кроме случаев вторичного синдрома Жильбера, гемолиза или лейкоза)

7. Имеют приемлемый статус коагуляции: Активированный частичный тромбопластин (aPTT) и протромбиновое время (PT) ≤1,5 × ВПН

8. Имеют отрицательный тест на беременность (если женщина детородного возраста)

9. Являются бесплодными или согласны использовать адекватный метод контрацепции. Сексуально активные пациенты и их партнеры должны использовать эффективный метод контрацепции (гормональный или барьерный метод контроля над рождаемостью или воздержание) до включения в исследование и на время участия в исследовании, а также в течение не менее 30 дней после последней дозы исследуемого

препарата. Если женщина забеременела или подозревает, что беременна во время участия в этом исследовании, она должна немедленно сообщить об этом своему лечащему врачу.

10. Прочли и подписали одобренную Мнститутским наблюдательным советом (IRB) форму информированного согласия (ФИС) до начала любой процедуры, связанной с исследованием. (В случае повторного скрининга пациента для участия в исследовании или изменения протокола, изменяющего уход за участвующим пациентом, необходимо подписать новую ФИС.)

11. Способны соответствовать требованиям всего исследования

Критерий исключения:

Пациентам, отвечающим любому из этих критериев исключения, будет запрещено участвовать в исследовании.

1. Перенесли ранее аутологичную или аллогенную трансплантацию стволовых клеток в течение ≤3 месяцев, не излечились от токсичности, связанной с трансплантатом, или нуждаются в иммунодепрессивной терапии заболевания «трансплантат против хозяина»

2. Имеют известное поражение центральной нервной системы (ЦНС)

3. Имеют трансформацию ХЛЛ по Рихтеру

4. Получают любую терапию моноклональными антителами, направленную на лечение злокачественного новообразования пациента, в течение 2 недель до ожидаемой первой дозы

5. Получили любую противоопухолевую терапию, включая химиотерапию, радиационную терапию или терапию исследуемым противоопухолевым препаратом в течение менее 5 периодов полужизни после последней дозы этого лечения. Этот критерий исключения не применяется к пациентам, которым требуется продолжение приема ибрутиниба. (Примечание: Некоторым пациентам, у которых на фоне приема ибрутиниба быстро растет количество лейкоцитов, может потребоваться продолжить прием этого препарата по медицинским причинам. Эти пациенты должны быть одобрены Медицинским наблюдателем и лечиться в соответствии с протоколом.)

6. Получили >20 мг/день преднизона и 0,1 мг/день минералокортикоидов в течение 7 дней до ожидаемой первой дозы

7. Имеют скорректированный интервал QT >450 мс (мужчины) и >470 мс (женщины) с использованием коррекции по формуле Фридерика

8. Имеют в анамнезе серьезные почечные, неврологические, психиатрические, эндокринологические, метаболические, иммунологические, печеночные или сердечнососудистые заболевания или любое другое состояние, которое, по мнению исследователя, может неблагоприятно повлиять на его/ее участие в исследовании.

9. Являются беременными и/или кормят грудью, или отказываются от использования подходящих контрацептивов в ходе исследования и в течение как минимум 30 дней после приема последней дозы исследуемого препарата.

10. За последние 5 лет в анамнезе было другое злокачественное новообразование,

за исключением следующих, получивших адекватное лечение: a) местная базальноклеточная или плоскоклеточная карцинома кожи; b) карцинома in situ шейки матки или груди; c) папиллярный неинвазивный рак мочевого пузыря; (d) рак простаты на ранней стадии, для которого клинически показано наблюдение; (e) другие виды рака стадии 1 или 2, которые в настоящее время находятся в полной ремиссии, (f) любой другой рак, находящийся в полной ремиссии в течение 2 лет или излеченный хирургическим путем. Для дополнительного определения приемлемой предыдущей истории рака можно связаться с Медицинским наблюдателем.

11. Имеют известные желудочно-кишечные расстройства (например, синдром мальабсорбции), осложнения (например, дисфагию) или операции, которые могут затруднить потребление или всасывание пероральных препаратов

12. Имеют неконтролируемую системную инфекцию (вирусную, бактериальную или грибковую) или лихорадку и нейтропению в течение 7 дней до ожидаемой первой дозы

13. Имеют активную и неконтролируемую аутоиммунную цитопению в течение 2 или более недель, включая аутоиммунную гемолитическую анемию или идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру (ИТП)

14. Ранее получали терапию ингибитором AXL.

15. Проявили аллергические реакции на подобное структурное соединение, биологический агент или состав.

16. Не желают или не могут соблюдать процедуры, требуемые в этом протоколе

17. Имеют в анамнезе тяжелые побочные реакции (например, реакцию гиперчувствительности, анафилаксию) на сульфаниламиды.

Схема лечения и дозировка

Это комбинированное исследование в фазе 1/2 перорального исследуемого препарата у пациентов с ранее леченными ХЛЛ/СКЛ. Как в фазе 1, так и в фазе 2 участников исследования распределяют в 1 из 2 групп:

- Группа 1 (монотерапия исследуемым препаратом): Пациенты с непереносимостью или прогрессирующим заболеванием на антагонистах B-клеточных рецепторов и/или антагонистах BCL-2 или других исследуемых методах лечения.

- Группа 2 (комбинированная терапия исследуемым препаратом и ибрутинибом): Пациенты, у которых наблюдается прогрессирование болезни на ибрутинибе, и лечащий врач считают, что продолжение терапии ибрутинибом отвечает наилучшим интересам пациента.

Обе группы пациентов получают одинаковое лечение исследуемым препаратом и проходят одинаковые исследования. В исследование может потребоваться до 36 месяцев, чтобы включить до 108 пациентов (до 27 пациентов в каждой группе (группа 1 и группа 2) как в фазе 1 (n=54), так и в фазе 2 (n=54).

Исследуемый препарат вводят перорально один раз в сутки в течение 28 дней (каждый курс - 28 дней; без периода без приема лекарств). Дозирование можно повторять

каждый курс при отсутствии прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности. Исследуемый препарат следует принимать утром после ночного голодания, запивая до 200 мл или 7 жидких унций воды не менее чем за 1 час до приема пищи или других лекарств. Ибрутиниб принимают перорально один раз в день примерно в одно и то же время каждый день. Капсулы глотают целиком, запивая водой. Не следует открывать, ломать или разжевывать капсулы.

Фаза 1

Пациентов включают в группу 1 и группу 2 в когорты от 3 до 6 пациентов одновременно. Группа 2 начинается с уровня дозы на 1 меньше начальной дозы группы 1. В каждой группе увеличение дозы исследуемого препарата происходит по стандартной схеме 3+3 с последовательными когортами из 3 пациентов, получающими постепенно более высокие дозы исследуемого препарата, до тех пор, пока не будет наблюдаться ОДТ и не будет установлено МПД. После включения первого пациента в дозу, второй и третий пациенты включаются через 3 недели, если исходный пациент не испытал ОДТ или какой-либо неприемлемой токсичности.

Если 1 из 3 пациентов в когорте испытывает ОДТ, до 3 дополнительных пациента получают лечение на этом уровне дозы. Если дополнительные ОДТ не наблюдаются в расширенной когорте из 3-6 пациентов в течение 28 дней после того, как последний пациент получил первую дозу, доза увеличивается в новой когорте из 3 пациентов. Если 2 или более из 3-6 пациентов с заданным уровнем дозы испытывают ОДТ во время первого курса, то МПД превышается, и до 6 пациентов будут лечиться на предыдущем более низком уровне дозы. Если 0 или 1 из 6 пациентов испытывают ОДТ на этом предыдущем более низком уровне дозы, эта доза объявляется МПД.

МПД определяется как доза, при которой $\leq$1 из 6 пациентов испытывают ОДТ во время курса 1, а следующая более высокая доза дает менее 2 из 3-6 пациентов, испытывающих ОДТ во время курса 1. После определения МПД или предварительного RP2D в каждую группу пациентов включают до шести пациентов для подтверждения безопасности/подтверждения пригодности предварительного RP2D, для сбора дополнительных данных биомаркеров и дальнейшего изучения эффективности. До 27 пациентов могут быть включены в каждую группу пациентов, всего до 54 пациентов в фазе 1.

При необходимости можно изучить дополнительные уровни доз, схемы или показания к заболеванию исследуемого лекарственного средства на основе модулирования ключевых биомаркеров, профиля безопасности и клинических сигналов активности.

Группа 1 (монотерапия исследуемым препаратом): Начальная доза исследуемого препарата в группе 1 (монотерапия) составляет 25 мг. Исследуемый препарат вводят перорально один раз в сутки в течение 28 дней (каждый курс - 28 дней; без периода без лекарства). Пациенты могут продолжать получать исследуемый препарат 28-дневными курсами в той же дозе, что и во время курса 1, до тех пор, пока они не испытают

неприемлемую токсичность или однозначное прогрессирование заболевания. Повышение дозы исследуемого препарата внутри группы не допускается.

Группа 2 (исследуемый препарат в сочетании с ибрутинибом): Начальная доза исследуемого препарата составляет 20 мг. Исследуемый препарат вводят перорально один раз в сутки в течение 28 дней (каждый курс состаляет 28 дней; без периода без приема лекарств). Пациенты также получают ибрутиниб в той же дозе, что и непосредственно перед включением в исследование. Пациенты продолжают принимать сочетание ибрутиниба и исследуемого препарата в течение как минимум 3 месяцев после начала исследования. По истечении этого времени пациенты либо продолжают комбинированную терапию, либо прекращают прием ибрутиниба и продолжают монотерапию исследуемым препаратом по усмотрению исследователя и после консультации с медицинским наблюдателем. Пациенты могут продолжать получать исследуемый препарат 28-дневными курсами в той же дозе, что и во время курса 1, до тех пор, пока они не испытают неприемлемую токсичность или однозначное прогрессирование заболевания.

Ибрутиниб может быть отменен и возобновлен по усмотрению исследователя и после консультации с медицинским наблюдателем; однако общее время, в течение которого пациенты могут получать лечение ибрутинибом, составляет 2 года.

Повышенные дозы исследуемого препарата в испытании фазы I представлены в таблице 22 ниже:

Таблица 22. Повышение дозы

Уровень дозы	**Предлагаемая суточная доза**	**Увеличение от предыдущей дозы**[a]	**Кол-во пациентов в когорте**
Группа 1 (монотерапия):			
1	25 мг	Начальная доза	3-6
2	33 мг	33%	3-6
3	45 мг	36%	3-6
4	58 мг	29%	3-6
5	75 мг	29%	3-6
6[b]	100 мг	33%	3-6
Группа 2 (сочетание)			
1	20 мг	Начальная доза	3-6
2	25 мг	25%	3-6
3	33 мг	33%	3-6
4	45 мг	36%	3-6
5	58 мг	29%	3-6
6[b]	75 мг	29%	3-6

7[b]	100 мг	33%	3-6

[a]В процессе исследования возможно добавление дополнительных и/или промежуточных доз.

[b] При наличии клинических показаний можно исследовать уровни доз выше 100 мг.

Фаза 2

В фазе 2 пациенты включаются в группу 1 и группу 2 на основе стадии плана Simon 2. На стадии 1 в каждую группу пациентов включают до 13 пациентов (всего 26 пациентов). Если среди этих 13 пациентов в каждой группе нет ответов, исследование прекращают. В противном случае, на этапе 2 в каждую группу включают 14 дополнительных пациентов, всего 27 пациентов в группе. Если у 27 пациентов наблюдается 4 или более ответа, можно сделать вывод, что исследуемое лечение заслуживает дальнейшего изучения. Когда истинная скорость отклика 20% (альтернативная гипотеза) проверяется по сравнению с частотой отклика нулевой гипотезы 5%, этот план дает частоту ошибок типа I 0,05 и эффективность 80%.

Группа 1 (монотерапия исследуемым препаратом): Начальная доза является RP2D, определенной во время фазы 1. Исследуемый препарат вводят перорально один раз в сутки в течение 28 дней (каждый курс составляет 28 дней; без периода без приема лекарств). Дозирование исследуемого препарата может продолжаться до тех пор, пока у пациента не возникнет неприемлемая токсичность или однозначное прогрессирование заболевания.

Группа 2 (исследуемый препарат в сочетании с ибрутинибом): Начальная доза является RP2D, определенной во время фазы 1. Исследуемый препарат вводят перорально один раз в сутки в течение 28 дней (каждый курс составляет 28 дней; без периода буз приема лекарств). Пациенты также будут получать ибрутиниб в той же дозе, которую они получали непосредственно перед включением в исследование.

Пациентам следует продолжить прием сочетание ибрутиниба и исследуемого препарата в течение как минимум 3 месяцев после начала исследования. По истечении этого времени пациенты либо продолжают комбинированную терапию, либо прекращают прием ибрутиниба и продолжают монотерапию исследуемым препаратом по усмотрению исследователя и после консультации с медицинским наблюдателем. Пациенты могут продолжать получать исследуемый препарат 28-дневными курсами в той же дозе, что и во время курса 1, до тех пор, пока они не испытают неприемлемую токсичность или однозначное прогрессирование заболевания.

Ибрутиниб может быть отменен и возобновлен по усмотрению исследователя и после консультации с медицинским наблюдателем; однако общее время, в течение которого пациенты могут получать лечение ибрутинибом, составляет 2 года.

Управление токсичностью и изменение дозировки

Управление токсичностью

НЯ можно лечить сопутствующими лекарствами в соответствии с клиническими показаниями главного исследователя. Все сопутствующие лекарства должны быть

записаны в источнике и в соответствующей электронной форме отчета о болезни (эРКП).

НЯ, которые имеют выраженность от средней до тяжелой по степени токсичности NCI CTCAE) и которые считаются возможно, вероятно или определенно связанными с лечением исследуемыми препаратами, могут привести к прекращению лечения исследуемым пациентом. Пациент может быть навсегда исключен из исследования в зависимости от характера и серьезности явления.

Ограничивающая дозу токсичность (ОДТ)

ОДТ определяется как любое из следующих событий, наблюдаемых в курсе 1, независимо от отнесения, если явно и неопровержимо связано с основным заболеванием или внешними причинами (такими как прогрессирующее заболевание; другое снижение количества лейкоцитов или циркулирующих гранулоцитов, не должны рассматриваться, поскольку снижение количества лейкоцитов является желаемой терапевтической конечной точкой):

- Любая не гематологическая токсичность ≥3 степени
- Любое НЯ 3 степени, которое не разрешается до степени 1 в течение 72 часов при использовании поддерживающей терапии
- Любое повышение АСТ и АЛТ ≥5 × ВПН, сопровождающееся уровнем билирубина в сыворотке >2 × ВПН
- Любые электролитные нарушения ≥3 степени (например, гиперкалиемия, гипофосфатемия, гиперурикемия), которые не проходят в течение <72 часов
- Любое повышение креатинина ≥3 степени
- Любая токсичность 5 степени
- Любой случай фебрильной нейтропении

Изменение дозы исследуемого препарата

Во время курса 1 доза исследуемого препарата не уменьшается. Дозы исследуемого препарата могут быть скорректированы для пациентов, которые получали несколько курсов исследуемого препарата. Снижение дозы на один уровень допускается в зависимости от наблюдаемой токсичности, которая произошла во время предыдущего курса. Повторное повышение дозы не допускается для любого пациента, у которого ранее было снижение дозы из-за токсичности или задержки выздоровления.

Если у пациента наблюдается токсичность, он может продолжать получать исследуемый препарат, как определено в таблице 23, в сочетании с руководящими принципами, изложенными в Шкале оценки гемологической токсичности IWCLL 2018.

Таблица 23. Руководство по корректировке дозы в зависимости от токсичности

НЯ, связанные с лекарством	**Действие**
1 степень	Текущий уровень дозы
2 степень	Возможность исследователя снизить дозу на 1 уровень дозы с согласия Медицинского наблюдателя.

3 степень[a]	Необходимо прекратить прием, а затем уменьшить дозу на 1 уровень после выздоровления до уровня ≤1 с согласия Медицинского наблюдателя.
4 степень	Исследователь и медицинский наблюдатель проводят обзор, чтобы определить, может ли пациент продолжить исследование с соответствующим снижением дозы после выздоровления до степени 1.

[a] Исключая краткой (на основании заключения исследователя) рвоты или диареи 3 степени при неоптимальном лечении.

Первоначально выполняют снижение дозы до следующего более низкого испытанного уровня дозы. Если в течение 1 или более курсов при новом уровне пониженной дозы возникают дальнейшие токсические эффекты, дальнейшее снижение не допускается, и пациент исключается из исследования.

Пациенты, у которых наблюдается ОДТ, должны прекратить участие в исследовании, если исследователи и медицинский наблюдатель не определят, что в наилучших интересах пациента продолжить снижение дозы и только после восстановления токсичности до степени 2 или выше.

Снижение дозы требуется пациентам, у которых задержка лечения превышает 2 недели из-за отсутствия выздоровления от какой-либо гематологической или не гематологической токсичности, даже если критерии ОДТ не соблюдаются. Кроме того, для пациентов с токсичностью, не соответствующей критериям ОДТ, разрешено снижение дозы. Эти токсические эффекты обсуждаются, чтобы определить, будет ли в интересах пациента продолжать прием соединения структуры (I) на следующем уровне предыдущей дозы.

Изменение дозы ибрутиниба

Лечащий врач должен следовать информации по терапии ибрутинибом на вкладыше в упаковку. Согласно этикетке ибрутиниба: Прервать терапию ибрутинибом при любой не гематологической нейтропении 3 степени или выше, нейтропении 3 степени или выше с инфекцией или лихорадкой или гематологической токсичности 4 степени. После того, как симптомы токсичности снизились до 1 степени или до исходного уровня (выздоровление), терапию ибрутинибом можно возобновить с начальной дозы. Если токсичность повторяется, уменьшите дозу на одну капсулу (140 мг в день). При необходимости может быть рассмотрено повторное снижение дозы на 140 мг. Если эти токсические эффекты сохраняются или повторяются после двух сокращений дозы, прекратите прием ибрутиниба. Рекомендуемые модификации дозы описаны ниже в Таблице 24.

Таблица 24. Рекомендуемые изменения дозы ибрутиниба

Возникновение токсичности	**Изменение дозы при ХЛЛ**

Первое	Придерживать ибрутиниб до восстановления до уровня ≤1 или исходного уровня; Можно возобновить с 420 мг в день
Второе	Придерживать ибрутиниб до восстановления до уровня ≤1 или исходного уровня; Можно возобновить с 280 мг в день
Третье	Придерживать ибрутиниб до восстановления уровня ≤1 или исходного уровня; Можно возобновить с 140 мг в день
Четвертое	Прекратить прием ибрутиниба

Если прием ибрутиниба был прерван по причине, отличной от токсичности (например, несвязанное заболевание), первый случай прерывания должен быть возобновлен в течение 42 дней. После перерывов в приеме исследуемого препарата на срок более 42 дней прием ибрутиниба следует полностью прекратить.

Сопутствующие лекарства и методы лечения

Пациенты, подвергающиеся лечению, описанному в этом примере, могут иметь предшествующие терапии соответствующего рака.

Пациенты, подлежащие немедленному лечению, могут получать одну или несколько сопутствующих терапий, которые представляют собой любые новые или существующие лекарства или терапию, принимаемые пациентом. Примеры включают в себя:

- Лекарства, включая, помимо прочего, рецептурные, безрецептурные препараты, противозачаточные таблетки/пластыри/гормональные устройства и гомеопатические препараты.

- Немедикаментозную терапию, включая, помимо прочего, термические/лазерные/радиационные процедуры, витамины, лекарственные травы/добавки.

После того, как пациент получит первую дозу исследуемого лекарственного средства, запись сопутствующих терапий ограничивается любыми новыми лекарствами или модификациями существующих лекарств, принимаемых для лечения НЯ. Эти методы лечения регистрируют в исходных документах и соответствующих эИРК вместе с диагнозом или причиной использования. Те способы лечения, которые используются для лечения НЯ, должны быть связаны с НЯ, а также должна быть заполнена документация по НЯ.

Во время исследования разрешается принимать сопутствующие лекарства, необходимые для здоровья и благополучия пациента и не мешающие оценке результатов исследования. Это включает использование соответствующих лекарств для лечения НЯ и/или сопутствующих заболеваний.

Лечение гемопоэтическими колониестимулирующими факторами роста, такими как гранулоцитарный колониестимулирующий фактор или гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, нельзя начинать во время курса 1, если у пациента нет ОДТ. Начало лечения эритроид-стимуляторами не может произойти во

время первого курса терапии. Если пациент получал постоянную дозу эритроид-стимулирующего агента, он может продолжать использовать агент в той же дозе во время курса 1 и последующих курсов.

Поддерживающая терапия включает:

- Тщательный мониторинг пациентов с высоким риском синдрома лизиса опухоли (СЛО) (т.е. пациентов с любым лимфатическим узлом [LN] ≥10 см или абсолютным количеством лимфоцитов [ALC] ≥25 × 109/л и любым LN ≥5 см) посредством сбора крови и анализа в реальном времени (STAT) лабораторных параметров СЛО (например, мочевой кислоты, калия, фосфата, кальция и креатинина) в день 1 курса 1 на исходном уровне (перед дозой) и через 6 часов и 24 часа после введения дозы.

- Профилактику инфекций (например, профилактическую терапию антибиотиками, противовирусную и/или противогрибковую терапию), которая должна быть начата в соответствии со стандартными протоколами каждого учреждения.

Следующие препараты исключены из одновременного приема:

- Противоопухолевые терапии (химиотерапия, радиационная терапия, иммунотерапия) в пределах менее 5 периодов полужизни после последней дозы такого лечения. Пациенты, включенные в группу 2 (исследуемый препарат в сочетание с ибрутинибом), продолжают лечение сочетанием не менее 3 месяцев. Ибрутиниб можно отменить и возобновить; однако общее время, в течение которого пациенты могут получать лечение ибрутинибом, составляет 2 года.

- Метаболизаторы CYP2C19: Пациенты, у которых обнаружены аномальные метаболизаторы CYP2C19 (т. е. интенсивные или слабые) до начала лечения, должны находиться под тщательным наблюдением. Если возможно, лечение пациента субстратом CYP2C19 следует прекратить до приема первой дозы или, как минимум, перейти на альтернативное, но эквивалентное лечение, которое не является субстратом CYP2C19 (ингибитор или индуктор). Если пациенту необходимо оставаться на субстрате CYP2C19, лечение исследуемым препаратом следует проводить осторожно, а за пациентом внимательно наблюдать в течение всего исследования.

- Пациентам группы 2 (т.е. исследуемого препарата в сочетание с ибрутинибом) следует избегать одновременного приема сильных или умеренных ингибиторов CYP3A (например, карбамазепина, рифампицина, фенитоина и зверобоя), поскольку эти вещества могут повышать концентрацию ибрутиниба в плазме.

- Пациентам группы 2 следует избегать одновременного приема сильных индукторов CYP3A, поскольку эти вещества могут снижать концентрацию ибрутиниба.

- Пациенты не должны принимать антагонисты H2-рецепторов, такие как циметидин, ранитидин и фамотидин, или любые ингибиторы протонной помпы, такие как омепразол, лансопразол, эзомепразол и пантопразол. Пациенты должны прекратить прием этих лекарств в течение 7 дней до начала лечения.

Сексуально активные пациенты и их партнеры должны использовать эффективный метод контрацепции, связанный с низкой частотой неудач, до включения в исследование,

на время участия в исследовании и в течение 30 дней после приема последней дозы исследуемого препарата. Следующие средства считаются эффективными противозачаточными средствами: (1) оральные противозачаточные таблетки; (2) презерватив плюс спермицид; (3) диафрагма плюс спермицид; (4) воздержание; (5) пациент или партнер хирургически стерильны; (6) пациент или партнер более 2 лет в постменопаузе; или (7) инъекционный или имплантируемый агент/устройство.

Оценка безопасности и эффективности

Оценка перед дозированием

Следующие процедуры и оценки выполняются в течение 14 дней до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства, после подписания ФИС, если не указано иное:

- Сбор и документация полной истории болезни, включая гистологически подтвержденный диагноз ХЛЛ/СЛЛ. Примеры включают в себя:

- Выполнение полного физического обследование, включая рост (см) и вес (кг), и проверка следующих конституциональных симптомов, указывающих на активное заболевание.

- Непреднамеренная потеря веса ≥10% в течение предыдущих 6 месяцев

- Выраженная усталость

- Лихорадка ≥100,5°F или (38,0°C) в течение ≥2 недель без признаков инфекции

- Ночная потливость в течение ≥1 месяца без признаков инфекции

- Запись жизненно важных показателей (температуры тела, дыхания, частоты сердечных сокращений, артериального давления)

- Оценка статуса эффективности ECOG

- Оценка лабораторных параметров, включая полный химический анализ сыворотки, гематологию (общий анализ крови [ОАК] с дифференциалом и подсчетом тромбоцитов), параметры свертывания (PT и aPTT), анализ мочи, сывороточные иммуноглобулины, прямой антиглобулин и β2-микроглобулин сыворотки.

- Снятие ЭКГ в 12 отведениях, включая оценку скорректированного интервала QT (с использованием формулы коррекции Фридерика) (QTcF)

- Тестирование на беременность (тестирование на беременность с бета-хорионическим гонадотропином человека в моче или сыворотке для женщин детородного возраста)

- Запись всех сопутствующих лекарств, включая все рецептурные, безрецептурные препараты и пищевые добавки, за последние 14 дней.

- Оценка исходного статуса болезни в соответствии с рекомендациями IWCLL 2018 (в течение 28 дней курса 1, день 1):

- Проведение компьютерной томографии (КТ) шеи, груди, живота и таза для оценки лимфаденопатии, гепатомегалии и спленомегалии;

- Биопсия костного мозга и аспирация с соответствующим образцом периферической крови

- Получение следующего (в течение 28 дней курса 1, день 1): молекулярная цитогенетика (FISH) для del (13q), del (11q), del (17p), add (12) [периферическая кровь]; кариотипирование со стимуляцией CpG (или институционального стандарта) [костного мозга]; анализ мутации TP53 [периферическая кровь]; и/или мутационный анализ вариабельной тяжелой цепи иммуноглобулина (IGHV) [периферическая кровь]

- Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) для оценки возможной трансформации Рихтера (в течение 14 дней после первой дозы)

Следующие базовые процедуры и оценки выполняются в любое время в течение 3 дней (72 часов) до введения первой дозы исследуемого препарата (не требуется повторения в курсе 1, день 1, если скрининговые обследования проводятся в пределах 3 дней до первой дозы):

- Полный физический осмотр, включая вес (кг)

- Запись жизненно важных показателей (температуры тела, дыхания, частоты сердечных сокращений, артериального давления)

- Оценка лабораторных параметров: полный химический состав сыворотки; гематология (общий анализ крови с дифференциалом и подсчетом тромбоцитов); тест на беременность (тест на беременность с бета-хорионическим гонадотропином человека в моче или сыворотке для женщин детородного возраста)

- Запись всех сопутствующих лекарств, включая все рецептурные, безрецептурные препараты и пищевые добавки.

- Просмотр всех критерии включения/исключения и определение того, соответствует ли пациент всем критериям приемлемости для включения в исследование. Получение разрешения Медицинского наблюдателя (или назначенного им лица) на регистрацию пациента.

Оценка лечения

(i) КУРС 1

1 день

- Полный физический осмотр, включая вес (кг)

- Запись жизненно важных показателей (температуры тела, дыхания, частоты сердечных сокращений, артериального давления) до первой дозы.

- Получение исходных признаков и симптомов до первой дозы

- Оценка статуса эффективности ECOG

- Оценка лабораторных параметров: полный химический состав сыворотки; гематология (общий анализ крови с дифференциалом и подсчетом тромбоцитов); лабораторные показатели СЛО должны оцениваться на исходном уровне (перед дозой) и через 6 часов и 24 часа после введения дозы (обзор в реальном времени [STAT]) у пациентов с высоким риском СЛО (т. е. пациентов с любым LN $\geq$10 см или ALC $\geq$25 $\times$ 109/л и любой LN $\geq$5 см); и/или тест на беременность (тест на беременность с бета-хорионическим гонадотропином человека в моче или сыворотке для женщин детородного возраста)

- Снятие ЭКГ в 12 отведениях непосредственно перед первой дозой, включая оценку QTcF

- Сбор крови для анализа ФК-параметров только в фазе 1

- Сбор крови для исследовательской оценки биомаркеров

- Оценка НЯ

- Запись всех сопутствующих лекарств, включая все рецептурные, безрецептурные препараты и пищевые добавки.

Ежедневно с 1 по 28 дни

- Инструктаж пациентов по принятию исследуемого препарата и ибрутиниба (для пациентов группы 2) перорально каждый день с 1 по 28 дни.

- Инструктаж пациентов по записи даты и времени приема дозы в дневнике дозирования.

Еженедельно (8, 15 и 22 дни [± 3 дня])

Следующие действия и оценки выполняются еженедельно (или как указано иначе) во время курса 1:

- Проведение сокращенного медицинского осмотра (по поводу НЯ или симптома)

- Запись жизненно важных показателей (температуры тела, дыхания, частоты сердечных сокращений, артериального давления) .

- Оценка лабораторных параметров: полный химический состав сыворотки; гематология (общий анализ крови с дифференциалом и подсчетом тромбоцитов);

- На 8-й день сбор крови на исследовательский биомаркер.

- Оценка НЯ

- Запись все сопутствующих лекарств, включая все рецептурные, безрецептурные препараты и пищевые добавки.

День 28

На 28-й день сбор крови для анализа РК-параметров в соответствии с графиком, приведенным в разделе 7.3, только в фазе 1.

(ii) КУРС 2

1 день

- Полный физический осмотр, включая вес (кг)

- Запись жизненно важных показателей (температуры тела, дыхания, частоты сердечных сокращений, артериального давления) до первой дозы.

- Оценка лабораторных параметров: полный химический состав сыворотки; гематология (общий анализ крови с дифференциалом и подсчетом тромбоцитов); тест на беременность (тест на беременность с бета-хорионическим гонадотропином человека в моче или сыворотке для женщин детородного возраста)

- Оценка статуса эффективности ECOG

- Снятие ЭКГ в 12 отведениях непосредственно перед первой дозой, включая оценку QTcF

- Сбор крови для исследовательской оценки биомаркеров

- Оценка НЯ

- Запись всех сопутствующих лекарств, включая все рецептурные, безрецептурные препараты и пищевые добавки.

Ежедневно с 1 по 28 дни

- Инструктаж пациентов по принятию исследуемого препарата и ибрутиниба (для пациентов группы 2) перорально каждый день с 1 по 28 дни.

- Инструктаж пациентов по записи даты и времени приема дозы в дневнике дозирования.

День 15 [± 3 дня]

- Проведение сокращенного медицинского осмотра (по поводу НЯ или симптома)

- Запись жизненно важных показателей (температуры тела, дыхания, частоты сердечных сокращений, артериального давления).

- Оценка лабораторных параметров: полный химический состав сыворотки; гематология (общий анализ крови с дифференциалом и подсчетом тромбоцитов);

- Оценка НЯ

- Запись все сопутствующих лекарств, включая все рецептурные, безрецептурные препараты и пищевые добавки.

День 28 (-4 дня):

- Оценка заболевания - оценка реакции в соответствии с рекомендациями IWCLL 2018, включая анализ следующих конституциональных симптомов, указывающих на активное заболевание: непреднамеренная потеря веса ≥10% в течение предыдущих 6 месяцев, выраженная утомляемость; лихорадка ≥100,5°F или (38,0°C) в течение ≥2 недель без признаков инфекции и/или ночная потливость в течение ≥1 месяца без признаков инфекции; и/или компьютерная томография шеи, грудной клетки, живота и таза, оценка лимфаденопатии, гепатомегалии и спленомегалии

- Если клинические и лабораторные результаты указывают на возможный CR: забор костного мозга и проведение аспирации с соответствующей периферической кровью для общего анализа крови и определения МОЗ (оценка центральной лаборатории)

(iii) КУРСЫ ≥3

Пациенты могут продолжать получать исследуемый препарат 28-дневными курсами в той же дозе, что и во время курса 1, до тех пор, пока они не испытают неприемлемую токсичность или однозначное прогрессирование заболевания.

1 день

Выполнение следующих действий и оценок в день 1 курса 3 и во все последующие курсы лечения:

- Полный физический осмотр, включая вес (кг)

- Запись жизненно важных показателей (температуры тела, дыхания, частоты сердечных сокращений, артериального давления) до первой дозы.

- Оценка лабораторных параметров: полный химический состав сыворотки; гематология (общий анализ крови с дифференциалом и подсчетом тромбоцитов); тест на

беременность (тест на беременность с бета-хорионическим гонадотропином человека в моче или сыворотке для женщин детородного возраста)

- Оценка статуса эффективности ECOG

- Снятие ЭКГ в 12 отведениях непосредственно перед первой дозой, включая оценку QTcF

- Сбор крови для анализа параметров ФК

- Сбор крови для исследовательской оценки биомаркеров

- Оценка НЯ

- Запись всех сопутствующих лекарств, включая все рецептурные, безрецептурные препараты и пищевые добавки.

Выполните ЭКГ в 12 отведениях непосредственно перед дозированием, включая оценку QTcF

Ежедневно с 1 по 28 дни

- Инструктаж пациентов по принятию исследуемого препарата и ибрутиниба (для пациентов группы 2) перорально каждый день с 1 по 28 дни.

- Инструктаж пациентов по записи даты и времени приема дозы в дневнике дозирования.

День 15 (±3 дня)

Следующие действия и оценки выполняются во время курса 3 и всех последующих курсов лечения:

- Проведение сокращенного медицинского осмотра (по поводу НЯ или симптома)

- Запись жизненно важных показателей (температуры тела, дыхания, частоты сердечных сокращений, артериального давления).

- Оценка лабораторных параметров: полный химический состав сыворотки; гематология (общий анализ крови с дифференциалом и подсчетом тромбоцитов);

- Оценка НЯ

- Запись все сопутствующих лекарств, включая все рецептурные, безрецептурные препараты и пищевые добавки.

День 28 (-4 дня):

Следующие оценки выполняются в день 28 каждого ЧЕТНОГО курса (т. е. курса 4, курса 6 и т. д.):

- Оценка заболевания - оценка реакции в соответствии с рекомендациями IWCLL 2018, включая анализ следующих конституциональных симптомов, указывающих на активное заболевание: непреднамеренная потеря веса ≥10% в течение предыдущих 6 месяцев, выраженная утомляемость; лихорадка ≥100,5°F или (38,0°C) в течение ≥2 недель без признаков инфекции и/или ночная потливость в течение ≥1 месяца без признаков инфекции; и/или компьютерная томография шеи, грудной клетки, живота и таза, оценка лимфаденопатии, гепатомегалии и спленомегалии

- Если клинические и лабораторные результаты указывают на возможный CR: забор костного мозга и проведение аспирации с соответствующей периферической

кровью для общего анализа крови и определения МОЗ (оценка центральной лаборатории)

Оценка в конце лечения

Если в любое время пациент прекращает прием исследуемого препарата, визит назначается как можно скорее и в течение 14 дней с момента приема последней дозы исследуемого препарата или в течение 14 дней после принятия решения о прекращении лечения. Если решение об исключении пациента принимается во время регулярного запланированного визита, это посещение может стать визитом в конце исследования, а не возвращением пациента для дополнительного посещения.

- Провести физический осмотр, включая вес (кг)

- Запись жизненно важных показателей (температуры тела, дыхания, частоты сердечных сокращений, артериального давления) до первой дозы.

- Оценка лабораторных параметров: полный химический состав сыворотки; гематология (общий анализ крови с дифференциалом и подсчетом тромбоцитов); тест на беременность (тест на беременность с бета-хорионическим гонадотропином человека в моче или сыворотке для женщин детородного возраста)

- Оценка статуса эффективности ECOG

- Снятие ЭКГ в 12 отведениях непосредственно перед первой дозой, включая оценку QTcF

Оценка заболевания - оценка реакции в соответствии с рекомендациями IWCLL 2018, включая анализ следующих конституциональных симптомов, указывающих на активное заболевание: непреднамеренная потеря веса ≥10% в течение предыдущих 6 месяцев, выраженная утомляемость; лихорадка ≥100,5°F или (38,0°C) в течение ≥2 недель без признаков инфекции и/или ночная потливость в течение ≥1 месяца без признаков инфекции; и/или компьютерная томография шеи, грудной клетки, живота и таза, оценка лимфаденопатии, гепатомегалии и спленомегалии

- Если клинические и лабораторные результаты указывают на возможный CR: забор костного мозга и проведение аспирации с соответствующей периферической кровью для общего анализа крови и определения МОЗ (оценка центральной лаборатории)

- Сбор крови для исследовательской оценки биомаркеров

- Оценка НЯ

- Запись всех сопутствующих лекарств, включая все рецептурные, безрецептурные препараты и пищевые добавки.

Критерии оценки

Конечные точки безопасности

Фаза 1

Безопасность контролируют с момента приема первой дозы до 30 дней после последней дозы исследуемого препарата. Во время фазы 1 конечные точки безопасности оценивают после курса 1. Комиссия по увеличению дозы, состоящая из исследователей, спонсоров и представителей CRO, имеет доступ к полным профилям безопасности всех пациентов, получающих исследуемый препарат, что позволяет принимать решения.

Первичной конечной точкой безопасности является оценка переносимости и токсичности исследуемого лекарственного средства, вводимого непрерывно перорально, путем оценки физического обследования, показателей жизненно важных функций, лабораторных параметров, запрошенных и нежелательных нежелательных явлений, включая ОДТ, и всех причин смертности в течение 30 дней с момента последней дозы препарата на обеих фазах исследования. На этапе 2 все причины смертности также оцениваются через 60 дней после введения последней дозы.

Общий профиль безопасности характеризуется типом, частотой, тяжестью, серьезностью, сроками, продолжительностью и взаимосвязью исследуемого препарата с НЯ и лабораторными отклонениями. НЯ, возникшие в связи с лечением (ПВЛНЯ), а именно НЯ с начальным началом или с ухудшением степени тяжести после первой дозы исследуемого препарата, будут классифицироваться с использованием Medical Dictionary for Regulatory Activities (MedDRA) версии 20.0 или выше и классифицироваться в соответствии с NCI CTCAE. v5.0. Будет сообщено обо всех ОДТ, и будут определены МПД и RP2D.

Конечные точки эффективности

Фаза 2

Первичной конечной точкой эффективности фазы 2 исследования является определение ЧОО (частота CR или PR) у пациентов с ранее леченным ХЛЛ/МЛЛ в соответствии с рекомендациями IWCLL 2018 г. (см., Например, Hallek et al. “Guidelines for Diagnosis, Indications for Treatment, Response Assessment and Supportive Management of Chronic Lymphocytic Leukemia” (дата публикации спонсируемых NCI инструкций Международного семинара по хроническому лимфоцитарному лейкозу)).

Вторичные конечные точки эффективности включают:

- DoR, определяемую как время от документирования ответа опухоли до прогрессирования заболевания.

- ВБП, определяемую как время от включения в исследование до объективного прогрессирования опухоли или смерти.

- ОС, определяемую как время от включения в исследование до смерти по любой причине.

Оценки эффективности проводят в курсе 2/день 28, а затем в каждом четном курсе (курс 4/день 28, курс 6/день 28 и т. д.). Показатели ответа рассчитываются на стадии 1 и стадии 2 в соответствии с планом стадий Simon 2.

DSMB является мониторингом ключевых результатов исследования во время фазы 2 исследования.

Ответ на заболевание оценивается каждые 2 курса в соответствии с рекомендациями IWCLL 2018 г.

Фармакокинетические конечные точки

ФК-анализ плазмы перорального исследуемого лекарственного средства выполняют в курсе 1 в дни 1 и 28 у всех пациентов, включенных в часть фазы 1 данного

исследования. Также могут быть оценены известные метаболиты исследуемого препарата, если таковые имеются. Рассчитывают стандартные параметры ПК плазмы, в том числе: Cmax, Tmax, ППК от времени 0 до 24 часов (ППК0-24), ППК0 inf, ППК от времени 0 до времени t (ППКt), период полужизни (t1/2) и клиренс с использованием некомпартментных методов (CL). Если позволяют данные, пропорциональность дозы и коэффициент накопления оценивают на этапе 1, курса 1. Образцы ПК должны быть взяты в день, указанный в протоколе.

Концентрации в плазме исследуемого перорального препарата суммируют описательной статистикой, включая среднее значение, n, стандартное отклонение, коэффициент вариации, минимум, максимум и медианное значение. Перед этим исследованием был разработан утвержденный биоаналитический метод обнаружения исследуемого препарата в плазме крови человека для определения чувствительности, специфичности, линейности и воспроизводимости анализа.

Фармакодинамические конечные точки

Конечные точки БП, включая оценки биомаркеров, оценивают в ходе исследования следующим образом:

- Кровь на наличие потенциальных биомаркеров, включая, помимо прочего, растворимый AXL, экспрессию и фосфорилирование AXL, GAS6 и мезенхимальные факторы транскрипции. Анализ образца ограничивается оценками, относящимися к активности исследуемого лекарственного средства или биомаркерам основного заболевания.

Побочные эффекты и изменение дозы

Нежелательное явление (НЯ) определяется как любое нежелательное медицинское событие, связанное с применением лекарственного средства у людей, независимо от того, считается ли оно связанным с ним или нет. Следовательно, НЯ может быть любым неблагоприятным и непреднамеренным признаком (включая аномальные лабораторные данные), симптомом или заболеванием, временно связанными с применением лекарственного средства, независимо от того, связано ли оно с лекарственным продуктом или нет.

Подозреваемой побочной реакцией является любое НЯ, которое с разумной вероятностью могло быть вызвано препаратом. Разумная вероятность означает, что есть данные, позволяющие предположить причинно-следственную связь между препаратом и НЯ.

Неожиданным НЯ или неожиданной предполагаемой нежелательной реакцияей является НЯ или предполагаемая неблагоприятная реакция, не известная специалистам в данной области, не указанная по специфичности или серьезности, которая наблюдалась, или не соответствует информации о риске, описанной в протоколе.

Токсичность оценивают в соответствии с NCI CTCAE, v5.0. Когда степень NCI CTCAE недоступна, может использоваться следующая классификация токсичности: легкая, умеренная, тяжелая, опасная для жизни или смертельная.

Таблица 25. Степени токсичности

1 СТЕПЕНЬ - Легкая:	Бессимптомная или легкие симптомы; только клинические или диагностические наблюдения; вмешательство не показано
2 СТЕПЕНЬ - Умеренная:	Показано минимальное, местное или неинвазивное вмешательство; ограничение возрастной инструментальной ИПД[a]
3 СТЕПЕНЬ - Тяжелая:	Важная с медицинской точки зрения, но не опасная для жизни; показана госпитализация или продление госпитализации; отключение; ограничение самообслуживания ИПД[b]
4 СТЕПЕНЬ - Опасность для жизни:	Опасные для жизни последствия; показано срочное вмешательство
5 СТЕПЕНЬ - Смертельный исход	Смерть, связанная с НЯ

a Инструментальная повседневная деятельность (ИПД) относится к приготовлению еды, покупкам продуктов или одежды, использованию телефона, управлению деньгами и т. д.

b Под ИПД по уходу за собой подразумевают купание, одевание и раздевание, самостоятельное потребление пищи, пользование туалетом, прием лекарств и отказ от постели.

Связь нежелательного явления (НЯ) с исследуемым препаратом следует определять следующим образом:

Несвязанное	НЯ явно не связано с исследуемым агентом (т. е. нет временной ассоциации и другой возможной причины [параллельное заболевание, лекарство]).
Маловероятное:	НЯ сомнительно связано с исследуемым агентом.
Возможное:	НЯ может быть связано с исследуемым агентом.
Вероятное:	НЯ, вероятно связано с исследуемым агентом
Определенное:	НЯ явно связано с исследуемым агентом.

Серьезное нежелательное явление (СНЯ) определяется как любой опыт, предполагающий значительную опасность, противопоказание, побочный эффект или меры предосторожности. СНЯ включает:

- Любую смерть, или

- Любое опасное для жизни событие (т. е. пациент находится в непосредственной опасности смерти в результате события, когда оно произошло), или

- Любое событие, которое приводит к стойкой, значительной, серьезной или постоянной потере трудоспособности или требует вмешательства для предотвращения такой инвалидности, или

- Любое событие, которое требует стационарной госпитализации или продлевает госпитализацию, или

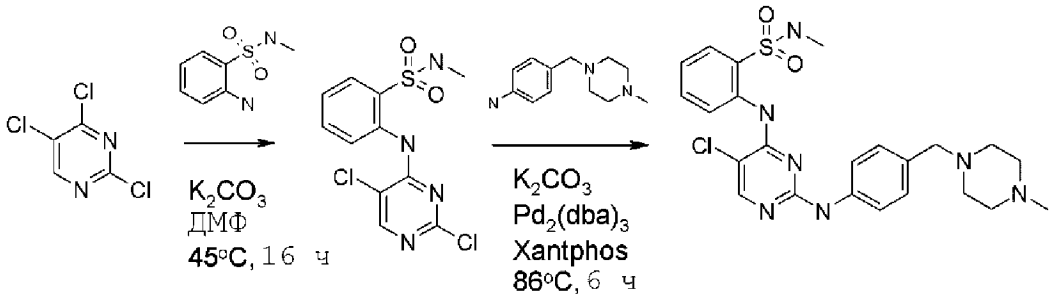
- Любая врожденная аномалия/врожденный дефект, или

- Любое значимое с медицинской точки зрения событие, которое может поставить под угрозу пациента или может потребовать вмешательства для предотвращения одного из других исходов, перечисленных выше.

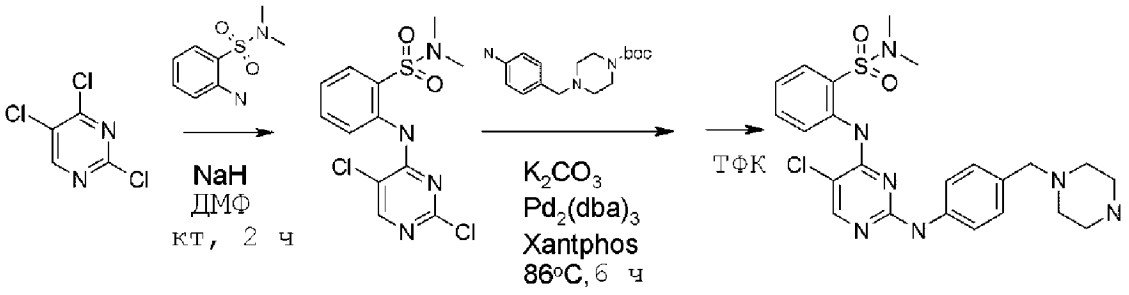
Пример 50: Путь синтеза M3 (SULF-1) и M4 (SULF-2)

Метаболиты M3 и M4 получали по следующим схемам.

SULF-1



SULF-2



Пример 51: Скрининг кристаллических форм растворителями и суспензиями

Условия эксперимента и краткие результаты, полученные в результате скрининга растворителя и скрининга суспензии, перечислены в таблицах 3-6. В качестве систем растворителей использовали различные органические растворители и их смеси с водой. По результатам этих скрининговых исследований десять кристаллических форм, формы A', A, B, C, D, E, F, G, H и I, были отнесены к диаграммам ПРД, как показано на фиг.98. Температурное поведение (диаграммы ДСК/ТГА) этих кристаллов также показано на фиг. 99A-99I. Изотермы сорбции влаги для форм A', A, B, C и D представлены на фиг. 116.

Форма A

Скриннинг растворителя проводили, как показано в таблице 4. Форму A не превращали и перекристаллизовывали в почти всех органических системах растворителей без H_2O. Два типа стехиометрических кристаллов, которые были указаны в

первоначальных исследованиях, были соответственно использованы в скриннинге суспензии, как показано в таблицах 3 и 5. Они сохранялись в почти всех системах растворителей, за исключением H_2O во время скриннинга. Это указывает на то, что форма А была в основном стабильной и доминирующей формой. Форму А превратили в форму В в H_2O, так как это наблюдается при скрининге растворителя. Графики термического анализа для двух типов Формы А показаны на Фиг. 99А. Значительную потерю веса наблюдали для этих партий при более высокой температуре плавления, чем ожидалось. Изотерма сорбции влаги показала, что эта форма А была гигроскопичной, как показано на фиг. 116, а дополнительный анализ ПРД, показанный на фиг. 117, показал, что форма А сохранялась после курса абсорбции/десорбции влаги. Во время исследований стабильности не наблюдали никаких значительных изменений, как показано в таблице 26.

Таблица 26. Краткое описание результатов стабильности

форма	Начальная	40°C	40°C/75% относительной влажности	60°C	60°C/75% относительной влажности
A ′	97,9%	98,1%	98,0%	97,8%	98,1%
A	99,3%	99,3%	99,3%	99,3%	99,3%
Д,	98,4%	98,2%	98,4%	98,2%	98,2%

Два типа стехиометрических кристаллов Формы А были окончательно идентифицированы, поскольку диаграммы ПРД двух партий соединения тартрата структуры (I) были одинаковыми, но количественные анализы с помощью ионной хроматографии были разными. Соотношения свободного основания и винной кислоты для этих двух типов стехиометрических кристаллов составляли 1:1,5 (форма А') и 1:2 (форма А). Рамановские спектры формы А соответствуют, как показано на фиг. 118.

Форма В

При скрининге растворителя и суспензии форму А преобразовали в форму В путем перекристаллизации/суспендирования в H_2O, как показано в Таблице 4 и Таблице 5. Дифрактограмма ПРД формы В была подобна дифрактограмме ПРД формы А, но, по-видимому, была загрязнена другой кристаллической формой, как показано на фиг. 98. Наблюдали потерю веса около 4% и широкий пик эндотерма, полученный из-за прилипания воды/растворителя, а температура плавления была выше 130°C, как показано на фиг. 99В. Изотерма сорбции влаги показала, что форма В гигроскопична, как показано на фиг. 116. Количественный анализ с помощью ионной хроматографии показал, что стехиометрия свободного основания и винной кислоты составляла 1:1,2. Типичный Рамановский спектр показан на фиг. 118, но Рамановские спектры варьировались в зависимости от измеренной площади продукта. Этот результат убедительно свидетельствует о том, что форма В была смесью формы А и другой формы.

Форма С

При скрининге экране растворителя, как показано в таблице 4, форму С получили

перекристаллизацией формы A из смеси H_2O и спирта, такого как метанол и 2-пропанол. На диаграмме термического анализа наблюдали потерю веса около 10% и широкий пик эндотерма, как показано на фиг. 99C. Это предполагает, что форма C может быть сольватом со спиртом, и спирт удаляется в зависимости от повышения температуры. Изотерма сорбции влаги, показанная на фиг. 116, показывает, что форма C гигроскопична.

Форма D

Форма D не образовывалась при скрининге растворителей из формы A. Форма D, используемая в скрининге суспензии, не превращалась в этанол и 2-пропанол, но превращалась в различные формы, E, F, G, H и I, в других растворителях, как показано в Таблице 6. Эти данные указывают на то, что Форму D будет трудно контролировать в производственном процессе. Потеря веса около 3% и широкий пик эндотерма из-за прилипшей воды/растворителя наблюдали на диаграмме термического анализа, как показано на фиг. 99D. Изотерма сорбции влаги, показанная на фиг. 116, показывает, что форма D гигроскопична. Дополнительный анализ ПРД, показанный на фиг. 117, показал, что форма D превращалась в другие формы после курса абсорбции/десорбции влаги. Во время исследований стабильности не наблюдали никаких значительных изменений, как показано в таблице 26. Стехиометрия свободного основания и винной кислоты составляет 1:1.

Форма E

Форму E получали при скрининге суспензии из формы D только в метаноле при комнатной температуре, как показано в таблице 6. На диаграмме термического анализа наблюдали потерю веса около 4%, как показано на фиг. 99E.

Форма F

Форму F получали при скрининге суспензии из формы D в смеси спирта и H_2O при комнатной температуре и 50°C, как показано в таблице 6. На диаграмме термического анализа наблюдали потерю веса около 6%, как показано на фиг. 99F.

Форма G

Форму G получали при скрининге суспензии из формы D в H_2O при комнатной температуре и 50°C, как показано в таблице 6. Диаграмма термического анализа представлена на фиг. 99G. Дальнейшие исследования не могли быть проведены из-за недостаточного количества образца.

Форма H

Форму H получали при скрининге суспензии только из формы D в смеси метанол-H_2O (5:1) при комнатной температуре, как показано в таблице 6. Диаграмма термического анализа представлена на фиг. 99H.

Форма I

Форму I получали при скрининге суспензии из Формы D только в ацетнирниле-H_2O (10:1) при 50°C, как показано в Таблице 6. Данные термического анализа представлены на фиг. 99I.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Скрининг полиморфов показал, что тартрат соединения структуры (I) имел девять кристаллических форм, включая сольваты. Среди них форма A может быть наиболее подходящей формой для тартрата, когда ее стехиометрия хорошо контролируется в процессе производства с точки зрения преобладания скриннингов и приемлемых свойств твердой формы.

Все патенты США, публикации заявок на патенты США, заявки на патенты США, иностранные патенты, иностранные патентные заявки и непатентные публикации, упомянутые в данном описании или прилагаемой таблице данных заявки, включены в настоящий документ в качестве ссылки до той степени, пока они совместимы с настоящим описанием.

Из вышеизложенного следует понимать, что, хотя конкретные варианты осуществления изобретения были описаны в данном документе с целью иллюстрации, различные модификации могут быть выполнены без отклонения от сущности и объема изобретения. Соответственно, изобретение не ограничивается, за исключением прилагаемой формулы изобретения.

Все характеристики, раскрытые в этом описании, могут быть объединены в любое сочетание. Каждая характеристики, раскрытая в этом описании, может быть заменена альтернативной характеристикой, служащей той же, эквивалентной или аналогичной цели. Таким образом, если явно не указано иное, каждая раскрытая характеристика является только примером общего ряда эквивалентных или подобных характеристик.

Из приведенного выше описания специалист в данной области техники может легко установить существенные характеристики настоящего изобретения и, не выходя за рамки его сущности и объема, может внести различные изменения и модификации изобретения, чтобы адаптировать его к различным применениям и условиям. Таким образом, другие варианты осуществления также находятся в пределах формулы изобретения.

ЭКВИВАЛЕНТЫ

Хотя здесь были описаны и проиллюстрированы несколько вариантов осуществления изобретения, специалисты в данной области техники легко смогут представить себе множество других средств и/или структур для выполнения функции и/или получения результатов и/или одного или нескольких описанных здесь преимуществ, и каждый из таких вариантов и/или модификаций считается находящимся в пределах объема описанных здесь вариантов осуществления изобретения. В более общем плане, специалисты в данной области техники легко поймут, что все параметры, размеры, материалы и конфигурации, описанные здесь, предназначены для примера, и что фактические параметры, размеры, материалы и/или конфигурации будут зависеть от конкретного применения или применений, для которых используются/используются идеи изобретения. Специалисты в данной области узнают или смогут установить, используя не более чем рутинное экспериментирование, многие эквиваленты конкретных вариантов осуществления изобретения, описанных здесь. Следовательно, следует понимать, что

вышеизложенные варианты осуществления представлены только в качестве примера и что в пределах объема прилагаемой формулы изобретения и ее эквивалентов варианты осуществления изобретения могут быть реализованы иначе, чем конкретно описано и заявлено. Изобретательские варианты осуществления настоящего раскрытия направлены на каждую отдельную особенность, систему, изделие, материал, набор и/или способ, описанные здесь. Кроме того, любое сочетание двух или более таких функций, систем, изделий, материалов, наборов и/или методов, если такие функции, системы, изделия, материалы, наборы и/или методы не противоречат друг другу, включается в изобретательский объем настоящего раскрытия.

Все определения, как они определены и используются в данном документе, следует понимать как контролирующие над словарными определениями, определениями в документах, включенных в качестве ссылки, и/или обычными значениями определенных терминов.

Все ссылки, патенты и заявки на патенты, раскрытые в данном документе, включены в качестве ссылки в отношении объекта изобретения, для которого каждый цитируется, который в некоторых случаях может охватывать весь документ.

Неопределенные артикли «а» и «an», используемые здесь в описании и формуле изобретения, если явно не указано иное, следует понимать как означающие «по меньшей мере, один».

Фраза «и/или», используемая здесь в описании и в формуле изобретения, должна пониматься как означающая «один или оба» из элементов, соединенных таким образом, то есть элементов, которые в одних случаях присутствуют вместе, а в других присутствуют по отдельности. Множественные элементы, перечисленные с помощью «и/или», должны толковаться одинаково, то есть «один или несколько» из соединенных таким образом элементов. При желании могут присутствовать другие элементы, отличные от элементов, конкретно обозначенных предложением «и/или», независимо от того, связаны они или не связаны с этими конкретно указанными элементами. Таким образом, в качестве неограничивающего примера ссылка на «А и/или В» при использовании в сочетании с открытым термином, таким как «содержащий», может относиться, в одном варианте осуществления, только к А (необязательно включая элементы, отличные от В); в другом варианте осуществления только к В (необязательно включая элементы, отличные от А); в еще одном варианте осуществления как к А, так и к В (необязательно включая другие элементы); и т.д.

Используемый здесь в описании и формуле изобретения «или» следует понимать как имеющий то же значение, что и «и/или», как определено выше. Например, при разделении элементов в списке «или» или «и/или» следует интерпретировать как включающее, т. е. включающее, по меньшей мере, один, но также и более одного, из множества или списка элементов, и, необязательно, дополнительные элементы, не внесенные в список. Только термины, явно указывающие на обратное, такие как «только один из» или «ровно один из» или, при использовании в формуле изобретения,

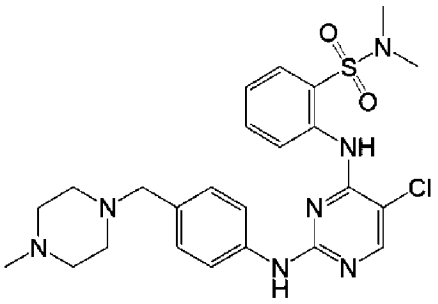
«состоящий из» будут относиться к включению ровно одного элемента из множества или списка элементов. В общем, термин «или», используемый в данном документе, должен толковаться только как указывающий на исключительные альтернативы (то есть «один или другой, но не оба»), когда ему предшествуют термины исключительности, такие как «любой», «один из», «только один из» или «ровно один из». «Состоящий по существу из» при использовании в формуле изобретения имеет обычное значение, используемое в области патентного права.

Используемая здесь в описании и формуле изобретения фраза «по меньшей мере один» в отношении списка из одного или нескольких элементов должна пониматься как означающая, по меньшей мере, один элемент, выбранный из любого одного или нескольких элементов в список элементов, но не обязательно включающий по меньшей мере, один из каждого элемента, конкретно перечисленного в списке элементов, и не исключая любые сочетания элементов в списке элементов. Это определение также допускает, что элементы могут необязательно присутствовать помимо элементов, специально идентифицированных в списке элементов, к которым относится фраза «по меньшей мере, один», независимо от того, связаны они или не связаны с этими конкретно идентифицированными элементами. Таким образом, в качестве неограничивающего примера «по меньшей мере, один из А и В» (или, эквивалентно, «по меньшей мере, один из А или В», или, эквивалентно, «по меньшей мере, один из А и/или В») может относиться в одном варианте осуществления, по меньшей мере, к одному, необязательно включающему более одного, А, без присутствия В (и необязательно включая элементы, отличные от В); в другом варианте осуществления, по меньшей мере, к одному, необязательно включающему более одного, В, без присутствия А (и необязательно включая элементы, отличные от А); в еще одном варианте осуществления, по меньшей мере, к одному, необязательно включающему более одного А, и, по меньшей мере, одному, необязательно включающему более одного В (и необязательно включающему другие элементы); и т.д.

Также следует понимать, что, если явно не указано иное, в любых заявленных здесь способах, которые включают более одной стадии или действия, порядок стадий или действий способа не обязательно ограничивается порядком, в котором стадии или акты метода перечислены.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Тартрат соединения структуры (I):



(I)

2. Тартрат по п.1, имеющий молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) от примерно 1:1 до примерно 2:1.

3. Тартрат по п. 2, имеющий молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) примерно 2:1.

4. Тартрат по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что тартрат является солью L-(+)-винной кислоты.

5. Кристаллическая форма тартрата по любому из пп. 1-4.

6. Кристаллическая форма по п. 5, которая является кристаллической формой А, имеющей молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) примерно 2:1.

7. Кристаллическая форма по п. 6, содержащая форму А.

8. Кристаллическая форма по п. 7, состоящая в основном из формы А.

9. Кристаллическая форма по п. 8, отличающаяся тем, что форма А находится по существу в чистой форме.

10. Кристаллическая форма по любому из пп. 7-9, отличающаяся тем, что порошковая рентгеновская дифрактограмма (ПРД) содержит пики в единицах 2-тета при 11,2±0,2, 17,1±0,2 и 19,9±0,2.

11. Кристаллическая форма по п. 10, дополнительно содержащая пик в единицах 2-тета при 15,4±0,2.

12. Кристаллическая форма по п. 11, дополнительно содержащая пик в единицах 2-тета при 7,0±0,2.

13. Кристаллическая форма по любому из пп. 7-9, характеризующаяся дифрактограммой ПРД, содержащей три или более пика в единицах 2-тета, выбранных из 7,0±0,2, 11,2±0,2, 15,4±0,2, 16,3±0,2, 17,1 ±. 0,2, 19,9±0,2, 21,6±0,2 и 25,5±0,2.

14. Кристаллическая форма по п. 13, в которой дифрактограмма ПРД содержит 4, 5, 6, 7 или 8 пиков в единицах 2-тета, выбранных из 7,0±0,2, 11,2±0,2, 15,4±0,2, 16,3±0,2, 17,1.±0,2, 19,9±0,2, 21,6±0,2 и 25,5±0,2.

15. Кристаллическая форма по п. 14, в которой дифрактограмма ПРД по существу идентична дифрактограмме ПРД, показанной на Фигуре 61.

16. Кристаллическая форма по любому из пп. 7-15, отличающаяся тем, что термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) содержит пик эндотерма в единицах°С примерно 185,0-194,0.

17. Кристаллическая форма по п. 16, отличающаяся тем, что пик эндотерма имеет температуру начала около 186,3°C.

18. Кристаллическая форма по п. 17, отличающаяся тем, что термограмма ДСК включает пики эндотерма в единицах°C при примерно 107,8, примерно 152,1 и примерно 189,1.

19. Кристаллическая форма по п. 18, в которой термограмма ДСК по существу идентична термограмме, показанной на Фигуре 64.

20. Кристаллическая форма по любому из пп. 7-19, отличающаяся тем, что термограмма термогравиметрического анализа (ТГА) показывает потерю веса около 1,8% при 160°C.

21. Кристаллическая форма по п. 20, в которой термограмма ТГА по существу идентична термограмме, показанной на Фигуре 64.

22. Кристаллическая форма по любому из пп. 7-21, имеющая исходную чистоту, по меньшей мере, 99% и последующую чистоту, по меньшей мере, 99% после хранения в течение примерно до 15 дней при примерно 25°C±2°C при относительной влажности 60±5%.

23. Кристаллическая форма по любому из пп. 7-22, имеющая исходную чистоту, по меньшей мере, 99% и последующую чистоту, по меньшей мере, 99% после хранения в течение примерно до 15 дней при примерно 40°C±2°C при относительной влажности 75±5%.

24. Композиция, содержащая тартрат по любому из пп. 1-4 или кристаллическую форму по любому из пп. 5-23.

25. Композиция по п. 24, содержащая форму А по существу в чистой форме.

26. Композиция по п. 25, содержащая, по меньшей мере, 90% масс. формы А.

27. Композиция по п. 25 или п. 26, состоящая по существу из кристаллической формы А.

28. Композиция по любому из пп. 24-27, отличающаяся тем, что композиция является фармацевтической композицией и дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

29. Фармацевтическая композиция по п. 28, дополнительно содержащая один или несколько дополнительных терапевтических агентов.

30. Фармацевтическая композиция по п. 29, отличающаяся тем, что один или несколько дополнительных терапевтических агентов независимо выбраны из гормональных терапевтических агентов, химиотерапевтических агентов, иммунотерапевтических агентов, факторов роста клеток и агентов для ингибирования действия рецептора фактора роста клеток.

31. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 24-30, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция составлена для перорального введения.

32. Фармацевтическая композиция по п. 31, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция составлена в виде капсулы или таблетки.

33. Стандартная доза, содержащая фармацевтическую композицию по любому из пп. 24-32, отличающаяся тем, что стандартная доза содержит примерно 1-100 мг тартрата.

34. Стандартная доза по п. 33, содержащая около 1 мг, 4 мг, 16 мг, 25 мг, 50 мг, 75 мг или 100 мг тартрата.

35. Стандартная доза по п. 33 или 34, отличающаяся тем, что стандартная доза составлена в твердой желатиновой капсуле для перорального введения.

36. Способ лечения рака, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества тартрата по любому из пп. 1-4, или кристаллической формы по любому из пп. 5-23, или фармацевтической композиции по любому из пп. 24-32 или стандартной дозы по любому из пп. 33-35.

37. Способ по п. 36, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества тартрата, имеющего молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) примерно 2:1.

38. Способ по п. 37, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества кристаллической Формы А.

39. Способ по п. 38, отличающийся тем, что форма А находится по существу в чистой форме.

40. Способ по любому из пп. 36-39, отличающийся тем, что субъектом является человек.

41. Способ по любому из пп. 36-40, отличающийся тем, что раком является солидная опухоль или гематологический рак.

42. Способ по п. 41, отличающийся тем, что солидной опухолью является опухоль костей, органов пищеварения, репродуктивных органов, головы, шеи, легких, сердца, кожи, нервной системы, эндокринной системы, нейроэндокринной системы, мочевыделительной системы, мягких тканей или мозга.

43. Способ по п. 41, отличающийся тем, что гематологическим раком является множественная миелома, миелодиспластический синдром (МДС), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый лимфоцитарный лейкоз, хронический лимфогенный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), малый лимфоцитарная лимфома (МЛЛ), лимфома из мантийных клеток, диффузная крупноклеточная В-лимфома, фолликулярная лимфома или неходжкинская лимфома.

44. Способ по любому из пп. 41-43, отличающийся тем, что раком является распространенная солидная опухоль и/или показано прогрессирование заболевания после получения одной или нескольких предшествующих противораковых терапий.

45. Способ по любому из пп. 41-44, отличающийся тем, что солидная опухоль является устойчивой, вторичной, резистентной или рецидивирующей солидной опухолью.

46. Способ по п. 44 или п. 45, отличающийся тем, что одна или несколько предшествующих противораковых терапий рака гормональный терапевтический агент, химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент или ингибитор поверхностноклеточного рецептора.

47. Способ по п. 46, отличающийся тем, что химиотерапевтическим агентом является алкилирующий агент, агент на основе платины, антиметаболит, противораковый антибиотик или противораковый агент растительного происхождения.

48. Способ по п. 47, отличающийся тем, что химиотерапевтический агент выбирают из группы, состоящей из карбоплатина, цисплатина, мибоплатина, недаплатина и оксалиплатина.

49. Способ по п. 44 или п. 45, отличающийся тем, что одна или несколько предшествующих терапий рака включают иммунотерапию, химиотерапию или их сочетание.

50. Способ по любому из пп. 41-42 и 44-49, отличающийся тем, что солидная опухоль выбрана из группы, состоящей из немелкоклеточного рака легкого (НМКРЛ), колоректальной карциномы (КРК), рака яичников, меланомы, карциномы молочной железы, нейродокринной карциномы, аденокарциномы простаты, холангиокарциномы, карциномы матки и рака поджелудочной железы.

51. Способ по любому из пп. 36-50, отличающийся тем, что субъект имеет, по меньшей мере, стабильное заболевание после получения иммунотерапии.

52. Способ по п. 51, отличающийся тем, что субъект прошел до двух курсов иммунотерапии.

53. Способ по любому из пп. 36-52, отличающийся тем, что у субъекта есть EGFR+ НМКРЛ.

54. Способ по п. 53, отличающийся тем, что субъект продемонстрировал прогрессирование заболевания после приема одного или нескольких видов химиотерапии, включающих один или несколько ингибиторов тирозинкиназы (ИТК).

55. Способ по п. 54, в котором один или более ИТК содержат ИТК EGFR.

56. Способ по любому из пп. 53-55, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается, по меньшей мере, стабильное заболевание после приема до двух линий ИТК.

57. Способ по любому из пп. 36-52, отличающийся тем, что у субъекта имеется BRAF-, KRAS- или NRAS-мутированная колоректальная карцинома (КРК).

58. Способ по любому из пп. 36-52, отличающийся тем, что субъект страдает стойким или рецидивирующим раком яичников.

59. Способ по п. 58, отличающийся тем, что субъект является невосприимчивым или устойчивым к агенту на основе платины, прошел предшествующую терапию или и то, и другое.

60. Способ по п. 59, отличающийся тем, что агентом на основе платины является карбоплатин, цисплатин, мибоплатин, недаплатин или оксалиплатин.

61. Способ по любому из пп. 36-52, отличающийся тем, что у субъекта имеется меланома с мутацией BRAF.

62. Способ по п. 61, отличающийся тем, что у субъекта прогрессирует заболевание после иммунотерапии, химиотерапии, содержащей один или несколько ингибиторов

BRAF/MEK, или их сочетание.

63. Способ по любому из пп. 36-62, отличающийся тем, что субъект устойчив к иммунотерапии, и при этом способ дополнительно включает проведение такой же иммунотерапии для субъекта.

64. Способ по п. 63, отличающийся тем, что иммунотерапия включает анти-PD-1 или анти-PD-L1 средство.

65. Способ по любому из пп. 36-62, отличающийся тем, что субъект устойчив к химиотерапии, включающей ИТК, и при этом способ дополнительно включает проведение такой же химиотерапии для субъекта.

66. Способ по п. 65, отличающийся тем, что субъект не принимает стероиды в количестве, эквивалентном 15 мг/день преднизона.

67. Способ по п. 65 или п. 66, отличающийся тем, что способ дополнительно включает введение субъекту сопутствующих стероидов.

68. Способ по любому из пп. 36-67, отличающийся тем, что субъект не получает противоопухолевую терапию, по меньшей мере, в течение месяца до первой дозировки тартрата, не принимает метаболизаторов CYP2C19 и/или антагонистов H2-рецептора, по меньшей мере, за 7 дней до первой дозы тартрата.

69. Способ по любому из пп. 36-68, отличающийся тем, что субъекту перорально вводят тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию, содержащую его, в суточной дозе примерно 1,0, 1,5, 3,0, 6,0, 9,0, 12,0, 16,0, 21,0, 28,0, 37,0, 49,0 или 65,0 мг/м^2 тартрата.

70. Способ по любому из пп. 36-68, отличающийся тем, что субъекту перорально вводят тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию в суточной дозе тартрата примерно 20-100 мг, необязательно примерно 25-75 мг.

71. Способ по п. 70, отличающийся тем, что суточная доза тартрата составляет около 20 мг, около 25 мг, около 30 мг, около 35 мг, около 40 мг, около 45 мг, около 50 мг, около 55 мг, около 60 мг, около 65 мг, около 70 мг, около 75 мг, около 80 мг, около 85 мг, около 90 мг, около 95 мг или около 100 мг.

72. Способ по любому из пп. 36-71, отличающийся тем, что способ включает один или несколько курсов лечения, каждый из которых состоит примерно из 28 дней, и где в каждом курсе лечения тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию вводят субъекту ежедневно в течение 21 дня, после чего следует период без приема лекарственного средства в течение семи дней.

73. Способ по п. 44 или п. 45, отличающийся тем, что гематологическим раком является хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) или мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (МЛЛ).

74. Способ по п. 73, отличающийся тем, что субъект ранее прошел один или несколько курсов лечения ХЛЛ или МЛЛ.

75. Способ по п. 73 или п. 74, отличающийся тем, что субъект не переносит предыдущие терапии или имеет прогрессирующее заболевание после предыдущих

терапий.

76. Способ по п. 75, отличающийся тем, что предыдущие терапии включают антагонист В-клеточного рецептора, антагонист BCL-2 или их сочетание.

77. Способ по любому из пп. 73-76, отличающийся тем, что субъект не лечится одновременно другой терапией рака.

78. Способ по любому из пп. 73-77, отличающийся тем, что субъекту перорально вводят тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию в суточной дозе примерно 20-100 мг тартрата, необязательно примерно 25-75 мг.

79. Способ по п. 78, отличающийся тем, что суточная доза тартрата составляет примерно 25 мг, примерно 33 мг, примерно 45 мг, примерно 50 мг, примерно 58 мг, примерно 75 мг или примерно 100 мг.

80. Способ по любому из пп. 73-79, дополнительно включающий введение субъекту ингибитора BTK.

81. Способ по п. 80, отличающийся тем, что ингибитор BTK выбирают из группы, состоящей из ибрутиниба, акалабрутиниба, занубрутиниба и LOXO-305.

82. Способ по п. 81, отличающийся тем, что ингибитором BTK является ибрутиниб.

83. Способ по любому из пп. 80-82, отличающийся тем, что субъект ранее получал лечение ингибитором BTK и прогрессировал на лечении ингибитором BTK.

84. Способ по любому из пп. 80-83, отличающийся тем, что субъекту вводят тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию, содержащую его, в суточной дозе приблизительно 20-100 мг тартрата.

85. Способ по п. 84, отличающийся тем, что суточная доза тартрата составляет примерно 20 мг, примерно 25 мг, примерно 33 мг, примерно 45 мг, примерно 50 мг, примерно 58 мг, примерно 75 мг или примерно 100 мг.

86. Способ по любому из пп. 73-85, дополнительно включающий отслеживание субъекта на предмет синдрома лизиса опухоли (СЛО).

87. Способ по любому из пп. 73-86, дополнительно включающий введение субъекту антибиотика, противовирусного агента, противогрибкового агента или их сочетания.

88. Способ по любому из пп. 73-87, отличающийся тем, что способ включает один или несколько курсов лечения, каждый из которых состоит примерно из 28 дней, и где в каждом курсе субъекту вводят тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию, содержащая его, перорально один раз в день в течение 28 дней.

89. Способ по любому из пп. 36-88, отличающийся тем, что субъект имеет повышенный уровень растворимого AXL, экспрессии и/или фосфорилирования AXL, гена блокировки роста 6 (GAS6), фактора мезенхимальной транскрипции или их сочетание по сравнению с референсным уровнем растворимого AXL, GAS6 или фактора мезенхимальной транскрипции.

90. Способ по пп. 36-89, дополнительно включающий, перед этапом введения, идентификацию субъекта, имеющего повышенный уровень растворимого AXL, экспрессии и/или фосфорилирования AXL, гена блокировки роста 6 (GAS6), фактора мезенхимальной транскрипции или их сочетание относительно контрольного уровня растворимого AXL, GAS6 или фактора мезенхимальной транскрипции.

91. Способ по п. 90, отличающийся тем, что этап идентификации выполняется путем получения образца периферической крови или образца костного мозга субъекта-кандидата и измерения уровня растворимого AXL, уровня GAS6, уровня фактора мезенхимальной транскрипции или их сочетания в образце периферической крови или образце костного мозга.

92. Способ по любому из пп. 36-91, дополнительно включающий, после стадии введения, обследование субъекта на предмет одного или нескольких симптомов диареи, тошноты, рвоты, дисгевзии, анемии и тромбоцитопении.

93. Способ по п. 92, дополнительно включающий снижение суточной дозы тартрата или прекращение лечения, если обнаружен один или несколько симптомов.

94. Способ по любому из пп. 36-93, дополнительно включающий введение субъекту эффективного количества одного или нескольких терапевтических агентов.

95. Способ по п. 94, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов содержат один или несколько ингибиторов тирозинкиназы.

96. Способ по п. 95, отличающийся тем, что один или несколько ингибиторов тирозинкиназы включают ингибитор EGFR.

97. Способ по п. 95 или п. 96, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов содержат ингибитор иммунных контрольных точек.

98. Способ по п. 97, отличающийся тем, что ингибитором иммунной контрольной точки является ингибитор PD-1 или PD-L1.

99. Способ по п. 98, отличающийся тем, что ингибитором иммунных контрольных точек является ингибитор PD-1, которым является пембролизумаб, ниволумаб или их сочетание.

100. Способ по п. 98, отличающийся тем, что ингибитором иммунных контрольных точек является ингибитор PD-L1, которым является атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб или их сочетание.

101.Способ по любому из пп. 95-100, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов содержат ингибитор CDK.

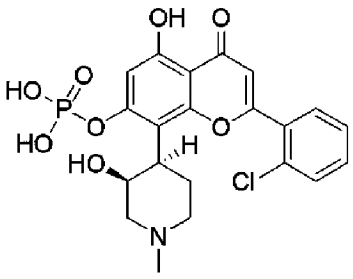
102. Способ по п. 101, отличающийся тем, что ингибитором CDK является ингибитор CDK9.

103. Способ по п. 102, отличающийся тем, что ингибитором CDK9 является альвоцидиб или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство.

104. Способ по п. 103, отличающийся тем, что ингибитором CDK9 является пролекарство альвоцидиба.

105. Способ по п. 104, отличающийся тем, что пролекарство имеет следующую

структуру (II'):



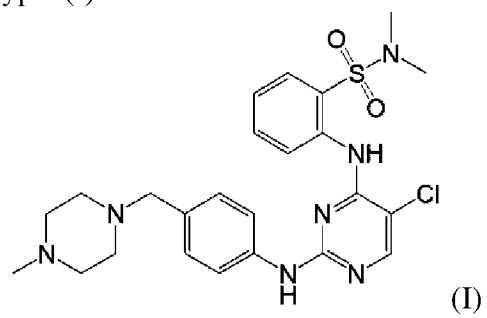
(II')

или его фармацевтически приемлемую соль или цвиттерионную форму.

106. Способ по любому из пп. 95-105, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов содержат химиотерапевтические агенты на основе платины.

107. Способ по п. 95, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов включают карбоплатин, гемцитабин, бевацизумаб, топотекан, рукапариб, олапариб, нирапариб, ниволумаб, пембролизумаб, атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб, ипилимумаб или их сочетание.

108. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли или кристаллической формы, где:

соединение, или его фармацевтически приемлемую соль, или его кристаллическую форму вводят субъекту перорально один раз в день в дозе от примерно 1,5 мг/м^2 до примерно 65 мг/м^2 или в дозе от примерно 20 мг до примерно 100 мг, необязательно от примерно 25 мг до примерно 75 мг.

109. Способ по п. 108, отличающийся тем, что соединение структуры (I), или его фармацевтически приемлемую соль, или его кристаллическую форму вводят перорально в дозе примерно 1,0, примерно 1,5, примерно 3,0, примерно 6,0, примерно 9,0, примерно 12,0, примерно 16,0, примерно 21,0, примерно 28,0, примерно 37,0, примерно 49,0 или примерно 65,0 мг/м^2.

110. Способ по п. 109, отличающийся тем, что соединение структуры (I), или его фармацевтически приемлемую соль, или его кристаллическую форму вводят субъекту в качестве единственного противоракового агента в суточной дозе примерно 20 мг, примерно 25 мг, примерно 30 мг, около 35 мг, около 40 мг, около 45 мг, около 50 мг, около 55 мг, около 60 мг, около 65 мг, около 70 мг, около 75 мг, около 80 мг, около 85 мг, около 90 мг, около 95 мг или около 100 мг.

111. Способ по п. 108, отличающийся тем, что соединение структуры (I), или его

фармацевтически приемлемую соль, или его кристаллическую форму вводят субъекту перорально одновременно со вторым противораковым агентом, и суточная доза соединения структуры (I), или его фармацевтически приемлемой соли, или его кристаллической формы составляет примерно 20 мг, примерно 25 мг, примерно 33 мг, примерно 45 мг, примерно 50 мг, примерно 58 мг, примерно 75 мг или примерно 100 мг.

112. Способ по п. 108, отличающийся тем, что вторым противораковым агентом является ингибитор BTK.

113. Способ по п. 112, отличающийся тем, что ингибитор BTK выбирают из группы, состоящей из ибрутиниба, акалабрутиниба, занубрутиниба и LOXO-305.

114. Способ по п. 113, отличающийся тем, что ингибитором BTK является ибрутиниб.

115. Способ по любому из пп. 112-114, отличающийся тем, что субъект получал предварительное лечение ингибитором BTK и прогрессировал на лечении ингибитором BTK.

116. Способ по любому из пп. 108-115, отличающийся тем, что субъектом является пациент-человек, страдающий солидной опухолью или гемопоэтическим раком.

117. Способ по п. 116, отличающийся тем, что у пациента-человека имеется распространенная солидная опухоль.

118. Способ по п. 116 или п. 117, отличающийся тем, что солидной опухолью является опухоль костей, органов пищеварения, репродуктивных органов, головы, шеи, легких, сердца, кожи, нервной системы, эндокринной системы, нейроэндокринной системы, мочевыделительной системы или мягких тканей.

119. Способ по п. 116, отличающийся тем, что гемопоэтическим раком является множественная миелома, миелодиспластический синдром (МДС), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый лимфоцитарный лейкоз, хронический лимфогенный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (МЛЛ), мантийноклеточная лимфома, диффузная В-крупноклеточная лимфома, фолликулярная лимфома или неходжкинская лимфома.

120. Способ по любому из пп. 116-119, отличающийся тем, что раком является распространенная солидная опухоль и/или показано прогрессирование заболевания после получения одной или нескольких предыдущих противораковых терапий.

121. Способ по любому из пп. 116-120, отличающийся тем, что солидная опухоль является стойкой, вторичной, невосприимчивой или рецидивирующей солидной опухолью.

122. Способ по п. 120 или п. 121, отличающийся тем, что одна или несколько предыдущих терапий рака включают гормональный терапевтический агент, химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент или ингибитор поверхностноклеточного рецептора.

123. Способ по п. 122, отличающийся тем, что химиотерапевтическим агентом

является алкилирующий агент, агент на основе платины, антиметаболит, противораковый антибиотик или противораковый агент растительного происхождения.

124. Способ по п. 123, отличающийся тем, что химиотерапевтический агент выбирают из группы, состоящей из карбоплатина, цисплатина, мибоплатина, недаплатина и оксалиплатина.

125. Способ по п. 123 или п. 124, отличающийся тем, что одна или несколько предыдущих терапий рака включают иммунотерапию, химиотерапию или их сочетание.

126. Способ по п. 125, отличающийся тем, что солидная опухоль выбрана из группы, состоящей из немелкоклеточного рака легкого (НМКРЛ), колоректальной карциномы (КРК), рака яичников, меланомы, карциномы молочной железы, нейродокринной карциномы, аденокарциномы простаты, холангиокарциномы, карциномы матки и рака поджелудочной железы.

127. Способ по любому из пп. 108-126, отличающийся тем, что субъект имеет, по меньшей мере, стабильное заболевание после получения иммунотерапии.

128. Способ по п. 127, отличающийся тем, что субъект прошел до двух курсов иммунотерапии.

129. Способ по любому из пп. 108-128, отличающийся тем, что у субъекта есть EGFR+ НМКРЛ.

130. Способ по п. 129, отличающийся тем, что субъект продемонстрировал прогрессирование заболевания после приема одного или нескольких химиотерапевтических препаратов, содержащих один или несколько ингибиторов тирозинкиназы (ИТК).

131. Способ по п. 130, в котором один или несколько ИТК содержат ИТК EGFR.

132. Способ по любому из пп. 129-131, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается, по меньшей мере, стабильное заболевание после приема до двух линий ИТК.

133. Способ по любому из пп. 108-128, отличающийся тем, что у субъекта имеется BRAF-, KRAS- или NRAS-мутированная колоректальная карцинома (КРК).

134. Способ по любому из пп. 108-133, отличающийся тем, что субъект страдает стойким или рецидивирующим раком яичников.

135. Способ по п. 134, отличающийся тем, что субъект является невосприимчивым или устойчивым к агенту на основе платины, прошел предыдущую терапию или и то, и другое.

136. Способ по п. 135, отличающийся тем, что агентом на основе платины является карбоплатин, цисплатин, мибоплатин, недаплатин или оксалиплатин.

137. Способ по любому из пп. 108-128, отличающийся тем, что у субъекта имеется меланома с мутацией BRAF.

138. Способ по п. 137, отличающийся тем, что у субъекта прогрессирует заболевание после иммунотерапии, химиотерапии, содержащей один или несколько ингибиторов BRAF/MEK, или их сочетание.

139. Способ по любому из пп. 108-138, отличающийся тем, что субъект устойчив к иммунотерапии, и при этом способ дополнительно включает введение субъекта такой же иммунотерапии.

140. Способ по п. 139, отличающийся тем, что иммунотерапия включает анти-PD-1 или анти-PD-L1 агент.

141. Способ по любому из пп. 108-140, отличающийся тем, что субъект устойчив к химиотерапии, включающей ИТК, и при этом способ дополнительно включает проведение такой же химиотерапии для субъекта.

142. Способ по п. 141, отличающийся тем, что субъект не принимает стероиды в количестве, эквивалентном 15 мг/день преднизона.

143. Способ по п. 141 или п. 142, отличающийся тем, что способ дополнительно включает введение субъекту сопутствующих стероидов.

144. Способ по любому из пп. 108-143, отличающийся тем, что субъект не получает противоопухолевую терапию, по меньшей мере, в течение месяца до первой дозировки тартрата, не принимает метаболизаторы CYP2C19 и/или антагонисты H2-рецептора, по меньшей мере, в течение 7 дней до первой дозы тартрата.

145. Способ по любому из пп. 108-144, отличающийся тем, что способ включает один или несколько курсов лечения, каждый из которых состоит из 28 дней, и где в каждом курсе пациенту вводят тартрат, его кристаллическую форму или содержащую его фармацевтическую композицию ежедневно в течение 21 дня, после чего следует семидневный отпуск без приема лекарственных средств.

146. Способ по п. 120 или п. 121, отличающийся тем, что гематологическим раком является хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) или мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (МЛЛ).

147. Способ по п. 146, отличающийся тем, что субъект ранее прошел одну или несколько терапий ХЛЛ или МЛЛ.

148. Способ по п. 146 или п. 147, отличающийся тем, что субъект не переносит предыдущие терапии или имеет прогрессирующее заболевание после предыдущих терапий.

149. Способ по п. 148, отличающийся тем, что предыдущие терапии включают антагонист B-клеточного рецептора, антагонист BCL-2 или их сочетание.

150. Способ по любому из пп. 146-149, отличающийся тем, что субъект не лечится одновременно другой терапией рака.

151. Способ по любому из пп. 146-150, дополнительно включающий отслеживание субъекта на предмет синдрома лизиса опухоли (СЛО).

152. Способ по любому из пп. 146-151, дополнительно включающий введение субъекту антибиотика, противовирусного агента, противогрибкового агента или их сочетания.

153. Способ по любому из пп. 146-152, отличающийся тем, что способ включает один или несколько курсов лечения, каждый из которых состоит примерно из 28 дней, и

где в каждом курсе субъекту вводят тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию, содержащую его, перорально один раз в день в течение 28 дней.

154. Способ по любому из пп. 108-153, отличающийся тем, что субъект имеет повышенный уровень растворимого AXL, экспрессии и/или фосфорилирования AXL, гена блокировки роста 6 (GAS6), фактора мезенхимальной транскрипции или их сочетание по сравнению с референсным уровнем растворимого AXL, GAS6 или фактора мезенхимальной транскрипции.

155. Способ по любому из пп. 108-154, дополнительно включающий, до стадии введения, идентификацию субъекта, имеющего повышенный уровень растворимого AXL, экспрессии и/или фосфорилирования AXL, гена блокировки роста 6 (GAS6) фактора мезенхимальной транскрипции или их сочетание относительно контрольного уровня растворимого AXL, GAS6 или фактора мезенхимальной транскрипции.

156. Способ по п. 155, отличающийся тем, что этап идентификации выполняется путем получения образца периферической крови или образца костного мозга субъекта-кандидата и измерения уровня растворимого AXL, уровня GAS6, уровня фактора мезенхимальной транскрипции или их сочетания в образце периферической крови или образце костного мозга.

157. Способ по любому из пп. 108-156, дополнительно включающий после стадии введения обследование субъекта на предмет одного или нескольких симптомов диареи, тошноты, рвоты, дисгевзии, анемии и тромбоцитопении.

158. Способ по п. 157, дополнительно включающий снижение суточной дозы тартрата или прекращение лечения, если обнаружен один или несколько симптомов.

159. Способ по любому из пп. 108-158, дополнительно включающий введение субъекту эффективного количества одного или нескольких терапевтических агентов.

160. Способ по п. 159, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов содержат один или несколько ингибиторов тирозинкиназы.

161. Способ по п. 160, отличающийся тем, что один или несколько ингибиторов тирозинкиназы включают ингибитор EGFR.

162. Способ по любому из пп. 159-161, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов содержат ингибитор иммунных контрольных точек.

163. Способ по п. 162, отличающийся тем, что ингибитором иммунной контрольной точки является ингибитор PD-1 или PD-L1.

164. Способ по п. 163, отличающийся тем, что ингибитором иммунных контрольных точек является ингибитор PD-1, которым является пембролизумаб, ниволумаб или их сочетание.

165. Способ по п. 163, отличающийся тем, что ингибитором иммунных контрольных точек является ингибитор PD-L1, которым является атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб или их сочетание.

166. Способ по любому из пп. 159-165, отличающийся тем, что один или несколько

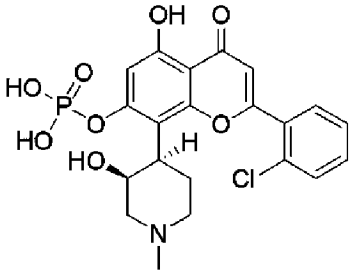
терапевтических агентов содержат ингибитор CDK.

167. Способ по п. 166, отличающийся тем, что ингибитором CDK является ингибитор CDK9.

168. Способ по п. 167, отличающийся тем, что ингибитором CDK9 является альвоцидиб или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство.

169. Способ по п. 168, отличающийся тем, что ингибитором CDK9 является пролекарство альвоцидиба.

170. Способ по п. 169, отличающийся тем, что пролекарство имеет следующую структуру (II'):



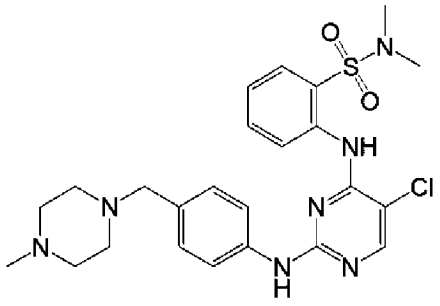
(II')

или его фармацевтически приемлемая соль или цвиттерионная форма.

171. Способ по любому из пп. 159-170, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов включают химиотерапевтические агенты на основе платины.

172. Способ по п. 159, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов включают карбоплатин, гемцитабин, бевацизумаб, топотекан, рукапариб, олапариб, нирапариб, ниволумаб, пембролизумаб, атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб, ипилимумаб или их сочетание.

173. Способ лечения рака, включающий введение эффективного количества соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, нуждающемуся в этом, где рак выбирают из группы, состоящей из EGFR+ немелкоклеточного рака легкого; BRAF-, KRAS- или NRAS-мутированной колоректальной карциномы; не поддающейся лечению или рецидивирующей карциномы яичников; BRAF-мутированной меланомы, воспалительного рака молочной железы и трижды негативного рака молочной железы.

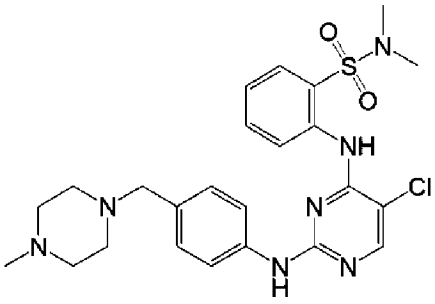
174. Способ по п. 173, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается прогрессирование заболевания после получения одной или нескольких предыдущих противораковых терапий.

175. Способ по п. 173 или п. 174, отличающийся тем, что рак является устойчивым,

трудно поддающимся лечению, вторичным или рецидивирующим раком.

176. Способ по п. 174, отличающийся тем, что одна или несколько предыдущих терапий рака включают гормональный терапевтический агент, химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент или ингибитор поверхностноклеточного рецептора.

177. Способ лечения рака, включающий введение эффективного количества соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, нуждающемуся в этом, где субъект страдает распространенным солидным раком или гемопоэтическим раком, причем субъект демонстрирует прогрессирование заболевания после предыдущей химиотерапии, иммунотерапии или их сочетания.

178. Способ по п. 177, отличающийся тем, что солидной опухолью является опухоль костей, органов пищеварения, репродуктивных органов, головы, шеи, легких, сердца, кожи, нервной системы, эндокринной системы, нейроэндокринной системы, мочевыделительной системы или мягких тканей.

179. Способ по п. 177, отличающийся тем, что гемопоэтическим раком является множественная миелома, миелодиспластический синдром (МДС), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый лимфоцитарный лейкоз, хронический лимфогенный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз (С-лимфолейкоз), мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (МЛЛ), мантийноклеточная лимфома, диффузная В-крупноклеточная лимфома, фолликулярная лимфома или неходжкинская лимфома.

180. Способ по любому из пп. 177-179, отличающийся тем, что предыдущая химиотерапия и/или иммунотерапия включает гормональный терапевтический агент, химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент или ингибитор поверхностноклеточного рецептора.

181. Способ по п. 180, отличающийся тем, что химиотерапевтическим агентом является алкилирующий агент, агент на основе платины, антиметаболит, противораковый антибиотик или противораковый агент растительного происхождения.

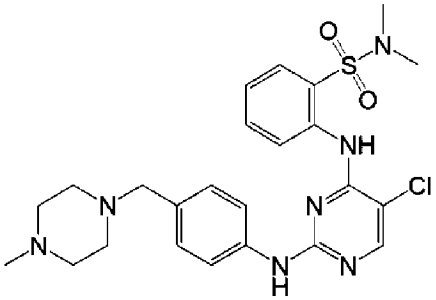
182. Способ по п. 181, отличающийся тем, что химиотерапевтический агент выбирают из группы, состоящей из карбоплатина, цисплатина, мибоплатина, недаплатина и оксалиплатина.

183. Способ по любому из пп. 177-181, отличающийся тем, что субъекта лечат одновременно с химиотерапией, иммунотерапией или их сочетанием.

184. Способ по любому из пп. 177-183, отличающийся тем, что субъект устойчив к иммунотерапии, и при этом способ дополнительно включает в себя введение субъекта такой же иммунотерапии.

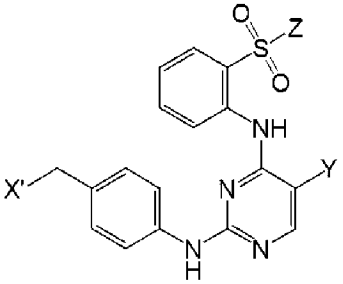
185. Способ по любому из пп. 177-183, отличающийся тем, что субъект устойчив к химиотерапии, включающей ИТК, и при этом способ дополнительно включает проведение такой же химиотерапии для субъекта.

186. Способ получения соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли, где способ включает взаимодействие соединения, имеющего следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли, где:

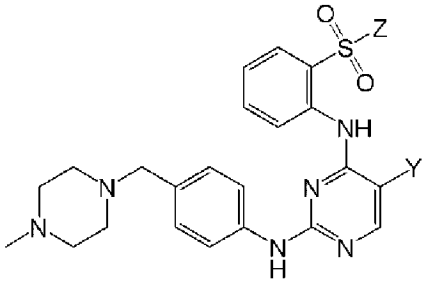
X’ является уходящей группой;

Y является галогеном;

Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

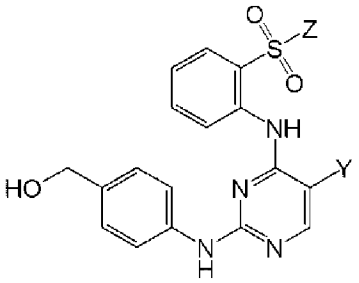
с N-метилпиперазином или его солью с получением соединения, имеющего следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли.

187. Способ по п. 186, дополнительно содержащий этап:

взаимодействие соединения, имеющего следующую структуру:



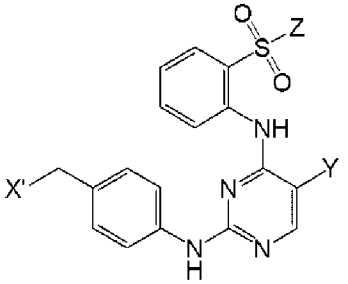
или его фармацевтически приемлемой соли, где:

Y является галогеном;

Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

с активирующим агентом для получения соединения, имеющего структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли.

188. Способ по п. 187, отличающийся тем, что активирующий агент содержит функциональную группу сульфонилхлорида.

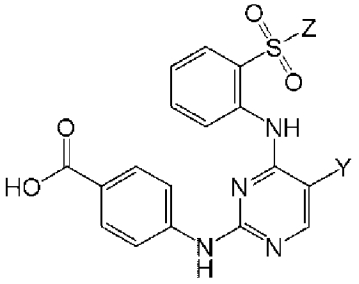
189. Способ по любому из пп. 186-188, отличающийся тем, что X' является галогеном или сульфонатом.

190. Способ по п. 189, отличающийся тем, что X' является хлором.

191. Способ по п. 190, отличающийся тем, что активирующим агентом является тионилхлорид.

192. Способ по п. 187, дополнительно содержащий этап:

взаимодействие соединения, имеющего следующую структуру:



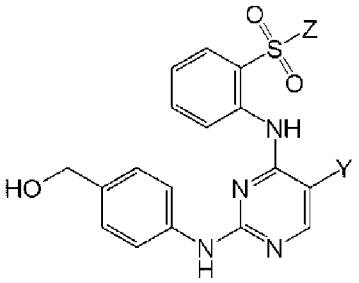
или его фармацевтически приемлемой соли, где:

Y является галогеном;

Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

с восстанавливающим агентом для получения соединения, имеющего структуру:

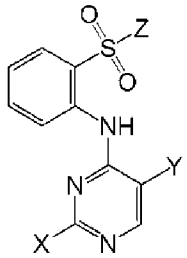


193. Способ по п. 192, отличающийся тем, что восстанавливающим агентом является алюмогидрид лития, диборан, боргидрид натрия, боран или их сочетание.

194. Способ по любому из пп. 186-193, отличающийся тем, что восстанавливающим агентом является боран.

195. Способ по пункту 192, дополнительно содержащий:

взаимодействие соединения, имеющего следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли, где:

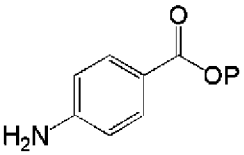
X является уходящей группой;

Y является галогеном;

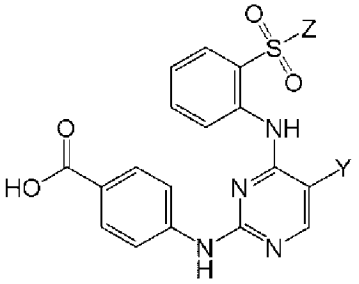
Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

с соединением, имеющим следующую структуру:



где P является H или защитной группой, с получением соединения, имеющего следующую структуру:



196. Способ по п. 195, отличающийся тем, что X является галогеном или сульфонатом.

197. Способ по п. 196, отличающийся тем, что X является хлором.

198. Способ по любому из пп. 195-197, отличающийся тем, что P является H.

199. Способ по любому из пп. 186-198, отличающийся тем, что Y является хлором.

200. Способ по любому из пп. 186-199, отличающийся тем, что Z является -$NR^1(R^2)$.

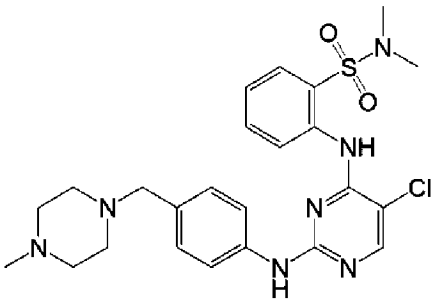
201. Способ по любому из пп. 186-200, отличающийся тем, что R^1 является C_1-C_8 алкилом.

202. Способ по п. 201, отличающийся тем, что R^1 является метилом.

203. Способ по любому из пп. 186-202, отличающийся тем, что R^2 является C_1-C_8 алкилм.

204. Способ по п. 203, отличающийся тем, что R^2 является метилом.

205. Способ получения тартрата соединения структуры (I):



(I)

где способ включает смешивание соединения структуры (I) с винной кислотой.

206. Способ по п. 205, отличающийся тем, что винной кислотой является L-(+)-винная кислота.

207. Способ по п. 205 или п. 206, отличающийся тем, что тартрат имеет кристаллическую форму A, и способ включает:

(a) растворение соединения структуры (I) в растворителе, содержащем анизол и этанол, с получением первого раствора;

(b) добавление раствора (L)-винной кислоты в этаноле к первому раствору с получением второго раствора; и

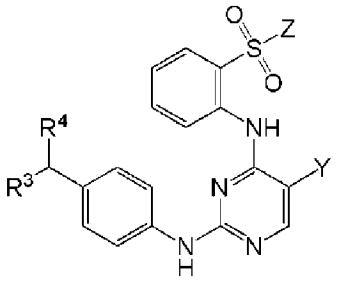
(c) кристаллизацию тартрата структуры (I) из второго раствора.

208. Способ по п. 207, отличающийся тем, что растворитель на стадии (a) содержит анизол и этанол в соотношении примерно 2,5:1 (масс./масс.) и/или имеет температуру примерно 70°C.

209. Способ по п. 207 или п. 208, отличающийся тем, что молярное отношение (L)-винной кислоты на стадии (b) к соединению структуры (I) на стадии (a) составляет около 2:1 и/или где раствор винной кислоты добавляют к первому раствору в течение примерно часа.

210. Способ по любому из пп. 207-209, отличающийся тем, что второй раствор охлаждают примерно до 20°C и/или перемешивают в течение примерно 5 часов.

211. Соединение, имеющее следующую структуру (III):



(III)

или его фармацевтически приемлемая соль, стереоизомер или таутомер, где:

Y является галогеном;

Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$;

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

R^3 является галогеном или OR^a;

R^4 является водородом или оксо; и

R^a является водородом или C_1-C_8 алкилом.

212. Соединение по п. 211, отличающееся тем, что Y является хлором.

213. Соединение по п. 211 или п. 212, отличающееся тем, что Z является $-NR^1(R^2)$.

214. Соединение по п. 213, отличающееся тем, что R^1 и R^2 являются C_1-C_8 алкилом.

215. Соединение по п. 213, отличающееся тем, что R^1 и R^2 являются метилом.

216. Соединение по любому из пп. 211-215, отличающееся тем, что R^3 является OR^a.

217. Соединение по п. 216, отличающееся тем, что R^a является H.

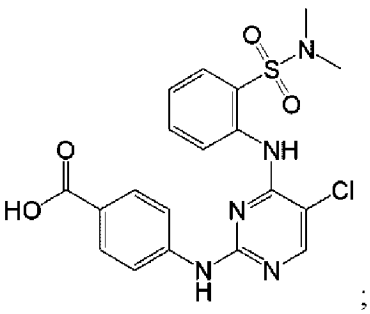
218. Соединение по любому из пп. 211-217, отличающееся тем, что R^3 является галогеном.

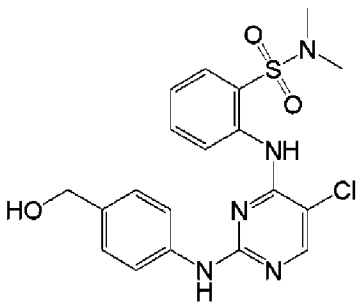
219. Соединение по п. 218, отличающееся тем, что R^3 является хлором.

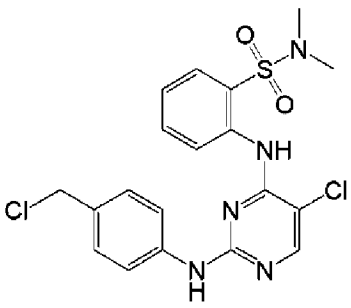
220. Соединение по любому из пп. 211-219, отличающееся тем, что R^4 является водородом.

221. Соединение по любому из пп. 211-220, отличающееся тем, что R^4 является оксо.

222. Соединение по любому из пп. 211-221, отличающееся тем, что соединение имеет одну из следующих структур:

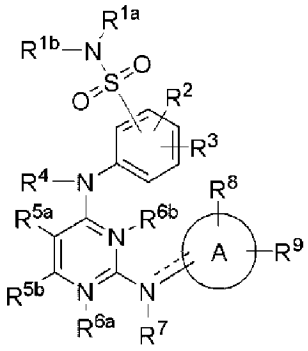

;





или

223. Соединение, имеющее следующую структуру (I):



(I)

или его стереоизомер, фармацевтически приемлемая соль, таутомер или пролекарство,

где:

A является 6-членным ароматическим кольцом или 6-членным карбоциклическим кольцом;

R^{1a} и R^{1b} каждый независимо является H, C_1-C_6 алкилом или -OH;

R^2 и R^3, каждый независимо является H, C_1-C_6алкилом или галогеном;

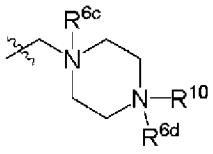
R^4 является H, C_1-C_6алкилом или -OH;

R^{5a} и R^{5b} каждый независимо является H, C_1-C_6алкилом или галогеном;

Каждый из R^{6a}, R^{6b}, R^{6c} и R^{6d} независимо отсутствует или является -O-;

R^7 является H, C_1-C_6алкилом, -OH или отсутствует;

R^8 отсутствует или имеет следующую структуру:



;

R^9 отсутствует или является алкенилом при условии, что присутствует, по меньшей мере, один из R^8 или R^9;

R^{10} является H или C_1-C_6алкилом; и

----- является двойной или одинарной связью; и

все валентности удовлетворены;

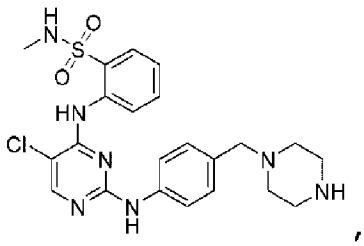
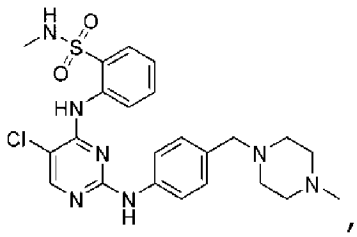
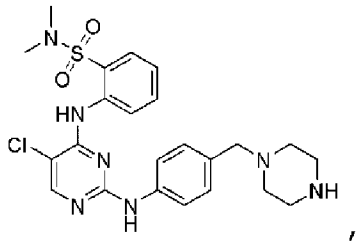
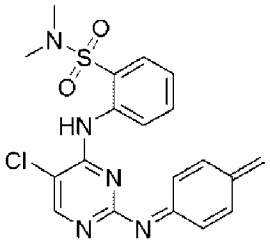
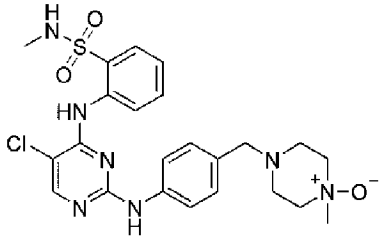
при условии, что если R^{1a} и R^{1b} оба являются метилом, то:

a. по меньшей мере, один из R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d} и R^9 является -O;

б. R^7 является C_1-C_6алкилом, -OH или отсутствует; и/или

с. R^{10} является H.

224. Соединение по п. 223, отличающееся тем, что соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

или


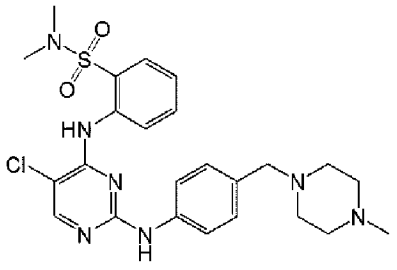
и их фармацевтически приемлемых солей.

225. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп. 211-224 или его стереоизомер, фармацевтически приемлемую соль, таутомер или пролекарство, а также фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент.

226. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение эффективного количества соединения по любому из пп. 211-224, или его стереоизомера, фармацевтически приемлемой соли, таутомера или пролекарства, или фармацевтической композиции по п. 223.

227. Способ определения метаболического профиля субъекта, включающий: контакт популяции клеток субъекта с терапевтическим агентом; и определение концентрации первого метаболита, который является соединением по любому из пп. 211-224.

228. Способ по п. 227, отличающийся тем, что терапевтическим средством является соединение, имеющее следующую структуру (VI):


(IV),

или его фармацевтически приемлемая соль или кристаллическая форма.

229. Способ по любому из пп. 36, 108, 177 и 226, отличающийся тем, что раком является меланома, рак груди или опухоль мозга.

230. Способ по п. 229, отличающийся тем, что меланомой является метастатическая меланома.

231. Способ по п. 230, отличающийся тем, что раком молочной железы является воспалительный рак молочной железы и/или трижды негативный рак молочной железы.

232. Способ по п. 229, отличающийся тем, что опухолью головного мозга является

мультиформная глибластома (МФГ).

233. Способ по любому из пп. 229-232, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается прогрессирование, повтор или рецидив заболевания после лечения иммунотерапией.

234. Способ по любому из пп. 229-233, дополнительно включающий введение субъекту иммунотерапевтического агента.

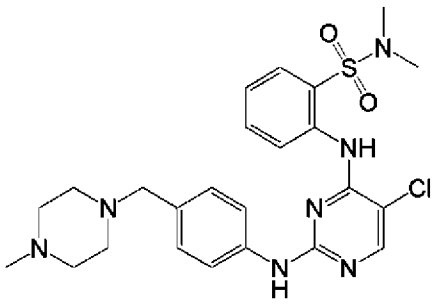
235. Способ по п. 234, отличающийся тем, что иммунотерапией является ингибитор контрольной точки или ингибитор CTLA-4.

236. Способ по п. 234, отличающийся тем, что иммунотерапевтическим агентом является пембролизумаб.

237. Способ по любому из пп. 173-185, отличающийся тем, что способ проводят в условиях, изложенных в любом из пп. 69-72 и 78-107.

ИЗМЕНЁННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ (по ст.34 PCT)

1. Тартрат соединения структуры (I):



(I)

2. Тартрат по п.1, имеющий молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) от примерно 1:1 до примерно 2:1.

3. Тартрат по п. 2, имеющий молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) примерно 2:1.

4. Тартрат по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что тартрат является солью L-(+)-винной кислоты.

5. Кристаллическая форма тартрата по любому из пп. 1-4.

6. Кристаллическая форма по п. 5, которая является кристаллической формой А, имеющей молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) примерно 2:1.

7. Кристаллическая форма по п. 6, содержащая форму А.

8. Кристаллическая форма по п. 7, состоящая в основном из формы А.

9. Кристаллическая форма по п. 8, отличающаяся тем, что форма А находится по существу в чистой форме.

10. Кристаллическая форма по любому из пп. 7-9, отличающаяся тем, что порошковая рентгеновская дифрактограмма (ПРД) содержит пики в единицах 2-тета при 11,2±0,2, 17,1±0,2 и 19,9±0,2.

11. Кристаллическая форма по п. 10, дополнительно содержащая пик в единицах 2-тета при 15,4±0,2.

12. Кристаллическая форма по п. 11, дополнительно содержащая пик в единицах 2-тета при 7,0±0,2.

13. Кристаллическая форма по любому из пп. 7-9, характеризующаяся дифрактограммой ПРД, содержащей три или более пика в единицах 2-тета, выбранных из 7,0±0,2, 11,2±0,2,

15,4±0,2, 16,3±0,2, 17,1 ±. 0,2, 19,9±0,2, 21,6±0,2 и 25,5±0,2.

14. Кристаллическая форма по п. 13, в которой дифрактограмма ПРД содержит 4, 5, 6, 7 или 8 пиков в единицах 2-тета, выбранных из 7,0±0,2, 11,2±0,2, 15,4±0,2, 16,3±0,2, 17,1.±0,2, 19,9±0,2, 21,6±0,2 и 25,5±0,2.

15. Кристаллическая форма по п. 14, в которой дифрактограмма ПРД по существу идентична дифрактограмме ПРД, показанной на Фигуре 61.

16. Кристаллическая форма по любому из пп. 7-15, отличающаяся тем, что термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) содержит пик эндотерма в единицах °С примерно 185,0-194,0.

17. Кристаллическая форма по п. 16, отличающаяся тем, что пик эндотерма имеет температуру начала около 186,3°С.

18. Кристаллическая форма по п. 17, отличающаяся тем, что термограмма ДСК включает пики эндотерма в единицах °С при примерно 107,8, примерно 152,1 и примерно 189,1.

19. Кристаллическая форма по п. 18, в которой термограмма ДСК по существу идентична термограмме, показанной на Фигуре 64.

20. Кристаллическая форма по любому из пп. 7-19, отличающаяся тем, что термограмма термогравиметрического анализа (ТГА) показывает потерю веса около 1,8% при 160°С.

21. Кристаллическая форма по п. 20, в которой термограмма ТГА по существу идентична термограмме, показанной на Фигуре 64.

22. Кристаллическая форма по любому из пп. 7-21, имеющая исходную чистоту, по меньшей мере, 99% и последующую чистоту, по меньшей мере, 99% после хранения в течение примерно до 15 дней при примерно 25°С±2°С при относительной влажности 60±5%.

23. Кристаллическая форма по любому из пп. 7-22, имеющая исходную чистоту, по меньшей мере, 99% и последующую чистоту, по меньшей мере, 99% после хранения в течение примерно до 15 дней при примерно 40°С±2°С при относительной влажности 75±5%.

24. Композиция, содержащая тартрат по любому из пп. 1-4 или кристаллическую форму по любому из пп. 5-23.

25. Композиция по п. 24, содержащая форму А по существу в

чистой форме.

26. Композиция по п. 25, содержащая, по меньшей мере, 90% масс. формы А.

27. Композиция по п. 25 или п. 26, состоящая по существу из кристаллической формы А.

28. Композиция по любому из пп. 24-27, отличающаяся тем, что композиция является фармацевтической композицией и дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

29. Фармацевтическая композиция по п. 28, дополнительно содержащая один или несколько дополнительных терапевтических агентов.

30. Фармацевтическая композиция по п. 29, отличающаяся тем, что один или несколько дополнительных терапевтических агентов независимо выбраны из гормональных терапевтических агентов, химиотерапевтических агентов, иммунотерапевтических агентов, факторов роста клеток и агентов для ингибирования действия рецептора фактора роста клеток.

31. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 24-30, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция составлена для перорального введения.

32. Фармацевтическая композиция по п. 31, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция составлена в виде капсулы или таблетки.

33. Стандартная доза, содержащая фармацевтическую композицию по любому из пп. 24-32, отличающаяся тем, что стандартная доза содержит примерно 1-100 мг тартрата.

34. Стандартная доза по п. 33, содержащая около 1 мг, 4 мг, 16 мг, 25 мг, 50 мг, 75 мг или 100 мг тартрата.

35. Стандартная доза по п. 33 или 34, отличающаяся тем, что стандартная доза составлена в твердой желатиновой капсуле для перорального введения.

36. Способ лечения рака, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества тартрата по любому из пп. 1-4, или кристаллической формы по

любому из пп. 5-23, или фармацевтической композиции по любому из пп. 24-32 или стандартной дозы по любому из пп. 33-35.

37. Способ по п. 36, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества тартрата, имеющего молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) примерно 2:1.

38. Способ по п. 37, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества кристаллической Формы А.

39. Способ по п. 38, отличающийся тем, что форма А находится по существу в чистой форме.

40. Способ по любому из пп. 36-39, отличающийся тем, что субъектом является человек.

41. Способ по любому из пп. 36-40, отличающийся тем, что раком является солидная опухоль или гематологический рак.

42. Способ по п. 41, отличающийся тем, что солидной опухолью является опухоль костей, органов пищеварения, репродуктивных органов, головы, шеи, легких, сердца, кожи, нервной системы, эндокринной системы, нейроэндокринной системы, мочевыделительной системы, мягких тканей или мозга.

43. Способ по п. 41, отличающийся тем, что гематологическим раком является множественная миелома, миелодиспластический синдром (МДС), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый лимфоцитарный лейкоз, хронический лимфогенный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), малый лимфоцитарная лимфома (МЛЛ), лимфома из мантийных клеток, диффузная крупноклеточная В-лимфома, фолликулярная лимфома или неходжкинская лимфома.

44. Способ по любому из пп. 41-43, отличающийся тем, что раком является распространенная солидная опухоль и/или показано прогрессирование заболевания после получения одной или нескольких предшествующих противораковых терапий.

45. Способ по любому из пп. 41-44, отличающийся тем, что солидная опухоль является устойчивой, вторичной, резистентной или рецидивирующей солидной опухолью.

46. Способ по п. 44 или п. 45, отличающийся тем, что одна

или несколько предшествующих противораковых терапий рака гормональный терапевтический агент, химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент или ингибитор поверхностноклеточного рецептора.

47. Способ по п. 46, отличающийся тем, что химиотерапевтическим агентом является алкилирующий агент, агент на основе платины, антиметаболит, противораковый антибиотик или противораковый агент растительного происхождения.

48. Способ по п. 47, отличающийся тем, что химиотерапевтический агент выбирают из группы, состоящей из карбоплатина, цисплатина, мибоплатина, недаплатина и оксалиплатина.

49. Способ по п. 44 или п. 45, отличающийся тем, что одна или несколько предшествующих терапий рака включают иммунотерапию, химиотерапию или их сочетание.

50. Способ по любому из пп. 41-42 и 44-49, отличающийся тем, что солидная опухоль выбрана из группы, состоящей из немелкоклеточного рака легкого (НМКРЛ), колоректальной карциномы (КРК), рака яичников, меланомы, карциномы молочной железы, нейродокринной карциномы, аденокарциномы простаты, холангиокарциномы, карциномы матки и рака поджелудочной железы.

51. Способ по любому из пп. 36-50, отличающийся тем, что субъект имеет, по меньшей мере, стабильное заболевание после получения иммунотерапии.

52. Способ по п. 51, отличающийся тем, что субъект прошел до двух курсов иммунотерапии.

53. Способ по любому из пп. 36-52, отличающийся тем, что у субъекта есть EGFR+ НМКРЛ.

54. Способ по п. 53, отличающийся тем, что субъект продемонстрировал прогрессирование заболевания после приема одного или нескольких видов химиотерапии, включающих один или несколько ингибиторов тирозинкиназы (ИТК).

55. Способ по п. 54, в котором один или более ИТК содержат ИТК EGFR.

56. Способ по любому из пп. 53-55, отличающийся тем, что у

субъекта наблюдается, по меньшей мере, стабильное заболевание после приема до двух линий ИТК.

57. Способ по любому из пп. 36-52, отличающийся тем, что у субъекта имеется BRAF-, KRAS- или NRAS-мутированная колоректальная карцинома (КРК).

58. Способ по любому из пп. 36-52, отличающийся тем, что субъект страдает стойким или рецидивирующим раком яичников.

59. Способ по п. 58, отличающийся тем, что субъект является невосприимчивым или устойчивым к агенту на основе платины, прошел предшествующую терапию или и то, и другое.

60. Способ по п. 59, отличающийся тем, что агентом на основе платины является карбоплатин, цисплатин, мибоплатин, недаплатин или оксалиплатин.

61. Способ по любому из пп. 36-52, отличающийся тем, что у субъекта имеется меланома с мутацией BRAF.

62. Способ по п. 61, отличающийся тем, что у субъекта прогрессирует заболевание после иммунотерапии, химиотерапии, содержащей один или несколько ингибиторов BRAF/MEK, или их сочетание.

63. Способ по любому из пп. 36-62, отличающийся тем, что субъект устойчив к иммунотерапии, и при этом способ дополнительно включает проведение такой же иммунотерапии для субъекта.

64. Способ по п. 63, отличающийся тем, что иммунотерапия включает анти-PD-1 или анти-PD-L1 средство.

65. Способ по любому из пп. 36-62, отличающийся тем, что субъект устойчив к химиотерапии, включающей ИТК, и при этом способ дополнительно включает проведение такой же химиотерапии для субъекта.

66. Способ по п. 65, отличающийся тем, что субъект не принимает стероиды в количестве, эквивалентном 15 мг/день преднизона.

67. Способ по п. 65 или п. 66, отличающийся тем, что способ дополнительно включает введение субъекту сопутствующих стероидов.

68. Способ по любому из пп. 36-67, отличающийся тем, что субъект не получает противоопухолевую терапию, по меньшей мере, в течение месяца до первой дозировки тартрата, не принимает метаболизаторов CYP2C19 и/или антагонистов H2-рецептора, по меньшей мере, за 7 дней до первой дозы тартрата.

69. Способ по любому из пп. 36-68, отличающийся тем, что субъекту перорально вводят тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию, содержащую его, в суточной дозе примерно 1,0, 1,5, 3,0, 6,0, 9,0, 12,0, 16,0, 21,0, 28,0, 37,0, 49,0 или 65,0 мг/м^2 тартрата.

70. Способ по любому из пп. 36-68, отличающийся тем, что субъекту перорально вводят тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию в суточной дозе тартрата примерно 20-100 мг, необязательно примерно 25-75 мг.

71. Способ по п. 70, отличающийся тем, что суточная доза тартрата составляет около 20 мг, около 25 мг, около 30 мг, около 35 мг, около 40 мг, около 45 мг, около 50 мг, около 55 мг, около 60 мг, около 65 мг, около 70 мг, около 75 мг, около 80 мг, около 85 мг, около 90 мг, около 95 мг или около 100 мг.

72. Способ по любому из пп. 36-71, отличающийся тем, что способ включает один или несколько курсов лечения, каждый из которых состоит примерно из 28 дней, и где в каждом курсе лечения тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию вводят субъекту ежедневно в течение 21 дня, после чего следует период без приема лекарственного средства в течение семи дней.

73. Способ по п. 44 или п. 45, отличающийся тем, что гематологическим раком является хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) или мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (МЛЛ).

74. Способ по п. 73, отличающийся тем, что субъект ранее прошел один или несколько курсов лечения ХЛЛ или МЛЛ.

75. Способ по п. 73 или п. 74, отличающийся тем, что субъект не переносит предыдущие терапии или имеет прогрессирующее заболевание после предыдущих терапий.

76. Способ по п. 75, отличающийся тем, что предыдущие

терапии включают антагонист В-клеточного рецептора, антагонист BCL-2 или их сочетание.

77. Способ по любому из пп. 73-76, отличающийся тем, что субъект не лечится одновременно другой терапией рака.

78. Способ по любому из пп. 73-77, отличающийся тем, что субъекту перорально вводят тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию в суточной дозе примерно 20-100 мг тартрата, необязательно примерно 25-75 мг.

79. Способ по п. 78, отличающийся тем, что суточная доза тартрата составляет примерно 25 мг, примерно 33 мг, примерно 45 мг, примерно 50 мг, примерно 58 мг, примерно 75 мг или примерно 100 мг.

80. Способ по любому из пп. 73-79, дополнительно включающий введение субъекту ингибитора BTK.

81. Способ по п. 80, отличающийся тем, что ингибитор BTK выбирают из группы, состоящей из ибрутиниба, акалабрутиниба, занубрутиниба и LOXO-305.

82. Способ по п. 81, отличающийся тем, что ингибитором BTK является ибрутиниб.

83. Способ по любому из пп. 80-82, отличающийся тем, что субъект ранее получал лечение ингибитором BTK и прогрессировал на лечении ингибитором BTK.

84. Способ по любому из пп. 80-83, отличающийся тем, что субъекту вводят тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию, содержащую его, в суточной дозе приблизительно 20-100 мг тартрата.

85. Способ по п. 84, отличающийся тем, что суточная доза тартрата составляет примерно 20 мг, примерно 25 мг, примерно 33 мг, примерно 45 мг, примерно 50 мг, примерно 58 мг, примерно 75 мг или примерно 100 мг.

86. Способ по любому из пп. 73-85, дополнительно включающий отслеживание субъекта на предмет синдрома лизиса опухоли (СЛО).

87. Способ по любому из пп. 73-86, дополнительно включающий введение субъекту антибиотика, противовирусного агента, противогрибкового агента или их сочетания.

88. Способ по любому из пп. 73-87, отличающийся тем, что способ включает один или несколько курсов лечения, каждый из которых состоит примерно из 28 дней, и где в каждом курсе субъекту вводят тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию, содержащая его, перорально один раз в день в течение 28 дней.

89. Способ по любому из пп. 36-88, отличающийся тем, что субъект имеет повышенный уровень растворимого AXL, экспрессии и/или фосфорилирования AXL, гена блокировки роста 6 (GAS6), фактора мезенхимальной транскрипции или их сочетание по сравнению с референсным уровнем растворимого AXL, GAS6 или фактора мезенхимальной транскрипции.

90. Способ по пп. 36-89, дополнительно включающий, перед этапом введения, идентификацию субъекта, имеющего повышенный уровень растворимого AXL, экспрессии и/или фосфорилирования AXL, гена блокировки роста 6 (GAS6), фактора мезенхимальной транскрипции или их сочетание относительно контрольного уровня растворимого AXL, GAS6 или фактора мезенхимальной транскрипции.

91. Способ по п. 90, отличающийся тем, что этап идентификации выполняется путем получения образца периферической крови или образца костного мозга субъекта-кандидата и измерения уровня растворимого AXL, уровня GAS6, уровня фактора мезенхимальной транскрипции или их сочетания в образце периферической крови или образце костного мозга.

92. Способ по любому из пп. 36-91, дополнительно включающий, после стадии введения, обследование субъекта на предмет одного или нескольких симптомов диареи, тошноты, рвоты, дисгевзии, анемии и тромбоцитопении.

93. Способ по п. 92, дополнительно включающий снижение суточной дозы тартрата или прекращение лечения, если обнаружен один или несколько симптомов.

94. Способ по любому из пп. 36-93, дополнительно включающий введение субъекту эффективного количества одного или нескольких терапевтических агентов.

95. Способ по п. 94, отличающийся тем, что один или

несколько терапевтических агентов содержат один или несколько ингибиторов тирозинкиназы.

96. Способ по п. 95, отличающийся тем, что один или несколько ингибиторов тирозинкиназы включают ингибитор EGFR.

97. Способ по п. 95 или п. 96, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов содержат ингибитор иммунных контрольных точек.

98. Способ по п. 97, отличающийся тем, что ингибитором иммунной контрольной точки является ингибитор PD-1 или PD-L1.

99. Способ по п. 98, отличающийся тем, что ингибитором иммунных контрольных точек является ингибитор PD-1, которым является пембролизумаб, ниволумаб или их сочетание.

100. Способ по п. 98, отличающийся тем, что ингибитором иммунных контрольных точек является ингибитор PD-L1, которым является атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб или их сочетание.

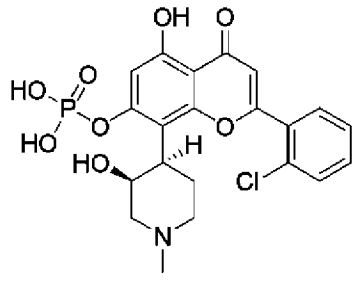
101.Способ по любому из пп. 95-100, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов содержат ингибитор CDK.

102. Способ по п. 101, отличающийся тем, что ингибитором CDK является ингибитор CDK9.

103. Способ по п. 102, отличающийся тем, что ингибитором CDK9 является альвоцидиб или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство.

104. Способ по п. 103, отличающийся тем, что ингибитором CDK9 является пролекарство альвоцидиба.

105. Способ по п. 104, отличающийся тем, что пролекарство имеет следующую структуру (II’):



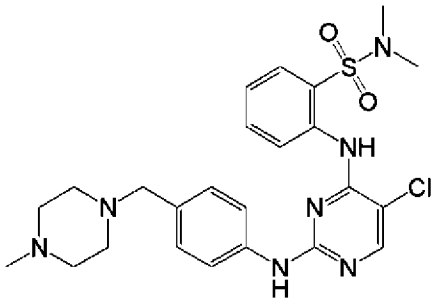
(II’)

или его фармацевтически приемлемую соль или цвиттерионную форму.

106. Способ по любому из пп. 95-105, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов содержат химиотерапевтические агенты на основе платины.

107. Способ по п. 95, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов включают карбоплатин, гемцитабин, бевацизумаб, топотекан, рукапариб, олапариб, нирапариб, ниволумаб, пембролизумаб, атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб, ипилимумаб или их сочетание.

108. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли или кристаллической формы, где:

соединение, или его фармацевтически приемлемую соль, или его кристаллическую форму вводят субъекту перорально один раз в день в дозе от примерно 1,5 мг/м^2 до примерно 65 мг/м^2 или в дозе от примерно 20 мг до примерно 100 мг, необязательно от примерно 25 мг до примерно 75 мг.

109. Способ по п. 108, отличающийся тем, что соединение структуры (I), или его фармацевтически приемлемую соль, или его кристаллическую форму вводят перорально в дозе примерно 1,0, примерно 1,5, примерно 3,0, примерно 6,0, примерно 9,0, примерно 12,0, примерно 16,0, примерно 21,0, примерно 28,0, примерно 37,0, примерно 49,0 или примерно 65,0 мг/м^2.

110. Способ по п. 109, отличающийся тем, что соединение структуры (I), или его фармацевтически приемлемую соль, или его кристаллическую форму вводят субъекту в качестве единственного противоракового агента в суточной дозе примерно 20 мг, примерно 25 мг, примерно 30 мг, около 35 мг, около 40 мг, около 45 мг, около 50 мг, около 55 мг, около 60 мг, около 65 мг, около 70 мг,

около 75 мг, около 80 мг, около 85 мг, около 90 мг, около 95 мг или около 100 мг.

111. Способ по п. 108, отличающийся тем, что соединение структуры (I), или его фармацевтически приемлемую соль, или его кристаллическую форму вводят субъекту перорально одновременно со вторым противораковым агентом, и суточная доза соединения структуры (I), или его фармацевтически приемлемой соли, или его кристаллической формы составляет примерно 20 мг, примерно 25 мг, примерно 33 мг, примерно 45 мг, примерно 50 мг, примерно 58 мг, примерно 75 мг или примерно 100 мг.

112. Способ по п. 108, отличающийся тем, что вторым противораковым агентом является ингибитор BTK.

113. Способ по п. 112, отличающийся тем, что ингибитор BTK выбирают из группы, состоящей из ибрутиниба, акалабрутиниба, занубрутиниба и LOXO-305.

114. Способ по п. 113, отличающийся тем, что ингибитором BTK является ибрутиниб.

115. Способ по любому из пп. 112-114, отличающийся тем, что субъект получал предварительное лечение ингибитором BTK и прогрессировал на лечении ингибитором BTK.

116. Способ по любому из пп. 108-115, отличающийся тем, что субъектом является пациент-человек, страдающий солидной опухолью или гемопоэтическим раком.

117. Способ по п. 116, отличающийся тем, что у пациента-человека имеется распространенная солидная опухоль.

118. Способ по п. 116 или п. 117, отличающийся тем, что солидной опухолью является опухоль костей, органов пищеварения, репродуктивных органов, головы, шеи, легких, сердца, кожи, нервной системы, эндокринной системы, нейроэндокринной системы, мочевыделительной системы или мягких тканей.

119. Способ по п. 116, отличающийся тем, что гемопоэтическим раком является множественная миелома, миелодиспластический синдром (МДС), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый лимфоцитарный лейкоз, хронический лимфогенный лейкоз, хронический

лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (МЛЛ), мантийноклеточная лимфома, диффузная В-крупноклеточная лимфома, фолликулярная лимфома или неходжкинская лимфома.

120. Способ по любому из пп. 116-119, отличающийся тем, что раком является распространенная солидная опухоль и/или показано прогрессирование заболевания после получения одной или нескольких предыдущих противораковых терапий.

121. Способ по любому из пп. 116-120, отличающийся тем, что солидная опухоль является стойкой, вторичной, невосприимчивой или рецидивирующей солидной опухолью.

122. Способ по п. 120 или п. 121, отличающийся тем, что одна или несколько предыдущих терапий рака включают гормональный терапевтический агент, химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент или ингибитор поверхностноклеточного рецептора.

123. Способ по п. 122, отличающийся тем, что химиотерапевтическим агентом является алкилирующий агент, агент на основе платины, антиметаболит, противораковый антибиотик или противораковый агент растительного происхождения.

124. Способ по п. 123, отличающийся тем, что химиотерапевтический агент выбирают из группы, состоящей из карбоплатина, цисплатина, мибоплатина, недаплатина и оксалиплатина.

125. Способ по п. 123 или п. 124, отличающийся тем, что одна или несколько предыдущих терапий рака включают иммунотерапию, химиотерапию или их сочетание.

126. Способ по п. 125, отличающийся тем, что солидная опухоль выбрана из группы, состоящей из немелкоклеточного рака легкого (НМКРЛ), колоректальной карциномы (КРК), рака яичников, меланомы, карциномы молочной железы, нейродокринной карциномы, аденокарциномы простаты, холангиокарциномы, карциномы матки и рака поджелудочной железы.

127. Способ по любому из пп. 108-126, отличающийся тем, что субъект имеет, по меньшей мере, стабильное заболевание после получения иммунотерапии.

128. Способ по п. 127, отличающийся тем, что субъект прошел до двух курсов иммунотерапии.

129. Способ по любому из пп. 108-128, отличающийся тем, что у субъекта есть EGFR+ НМКРЛ.

130. Способ по п. 129, отличающийся тем, что субъект продемонстрировал прогрессирование заболевания после приема одного или нескольких химиотерапевтических препаратов, содержащих один или несколько ингибиторов тирозинкиназы (ИТК).

131. Способ по п. 130, в котором один или несколько ИТК содержат ИТК EGFR.

132. Способ по любому из пп. 129-131, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается, по меньшей мере, стабильное заболевание после приема до двух линий ИТК.

133. Способ по любому из пп. 108-128, отличающийся тем, что у субъекта имеется BRAF-, KRAS- или NRAS-мутированная колоректальная карцинома (КРК).

134. Способ по любому из пп. 108-133, отличающийся тем, что субъект страдает стойким или рецидивирующим раком яичников.

135. Способ по п. 134, отличающийся тем, что субъект является невосприимчивым или устойчивым к агенту на основе платины, прошел предыдущую терапию или и то, и другое.

136. Способ по п. 135, отличающийся тем, что агентом на основе платины является карбоплатин, цисплатин, мибоплатин, недаплатин или оксалиплатин.

137. Способ по любому из пп. 108-128, отличающийся тем, что у субъекта имеется меланома с мутацией BRAF.

138. Способ по п. 137, отличающийся тем, что у субъекта прогрессирует заболевание после иммунотерапии, химиотерапии, содержащей один или несколько ингибиторов BRAF/MEK, или их сочетание.

139. Способ по любому из пп. 108-138, отличающийся тем, что субъект устойчив к иммунотерапии, и при этом способ дополнительно включает введение субъекта такой же иммунотерапии.

140. Способ по п. 139, отличающийся тем, что иммунотерапия включает анти-PD-1 или анти-PD-L1 агент.

141. Способ по любому из пп. 108-140, отличающийся тем, что субъект устойчив к химиотерапии, включающей ИТК, и при этом способ дополнительно включает проведение такой же химиотерапии для субъекта.

142. Способ по п. 141, отличающийся тем, что субъект не принимает стероиды в количестве, эквивалентном 15 мг/день преднизона.

143. Способ по п. 141 или п. 142, отличающийся тем, что способ дополнительно включает введение субъекту сопутствующих стероидов.

144. Способ по любому из пп. 108-143, отличающийся тем, что субъект не получает противоопухолевую терапию, по меньшей мере, в течение месяца до первой дозировки тартрата, не принимает метаболизаторы CYP2C19 и/или антагонисты H2-рецептора, по меньшей мере, в течение 7 дней до первой дозы тартрата.

145. Способ по любому из пп. 108-144, отличающийся тем, что способ включает один или несколько курсов лечения, каждый из которых состоит из 28 дней, и где в каждом курсе пациенту вводят тартрат, его кристаллическую форму или содержащую его фармацевтическую композицию ежедневно в течение 21 дня, после чего следует семидневный отпуск без приема лекарственных средств.

146. Способ по п. 120 или п. 121, отличающийся тем, что гематологическим раком является хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) или мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (МЛЛ).

147. Способ по п. 146, отличающийся тем, что субъект ранее прошел одну или несколько терапий ХЛЛ или МЛЛ.

148. Способ по п. 146 или п. 147, отличающийся тем, что субъект не переносит предыдущие терапии или имеет прогрессирующее заболевание после предыдущих терапий.

149. Способ по п. 148, отличающийся тем, что предыдущие терапии включают антагонист B-клеточного рецептора, антагонист BCL-2 или их сочетание.

150. Способ по любому из пп. 146-149, отличающийся тем, что субъект не лечится одновременно другой терапией рака.

151. Способ по любому из пп. 146-150, дополнительно включающий отслеживание субъекта на предмет синдрома лизиса опухоли (СЛО).

152. Способ по любому из пп. 146-151, дополнительно включающий введение субъекту антибиотика, противовирусного агента, противогрибкового агента или их сочетания.

153. Способ по любому из пп. 146-152, отличающийся тем, что способ включает один или несколько курсов лечения, каждый из которых состоит примерно из 28 дней, и где в каждом курсе субъекту вводят тартрат, его кристаллическую форму или фармацевтическую композицию, содержащую его, перорально один раз в день в течение 28 дней.

154. Способ по любому из пп. 108-153, отличающийся тем, что субъект имеет повышенный уровень растворимого AXL, экспрессии и/или фосфорилирования AXL, гена блокировки роста 6 (GAS6), фактора мезенхимальной транскрипции или их сочетание по сравнению с референсным уровнем растворимого AXL, GAS6 или фактора мезенхимальной транскрипции.

155. Способ по любому из пп. 108-154, дополнительно включающий, до стадии введения, идентификацию субъекта, имеющего повышенный уровень растворимого AXL, экспрессии и/или фосфорилирования AXL, гена блокировки роста 6 (GAS6) фактора мезенхимальной транскрипции или их сочетание относительно контрольного уровня растворимого AXL, GAS6 или фактора мезенхимальной транскрипции.

156. Способ по п. 155, отличающийся тем, что этап идентификации выполняется путем получения образца периферической крови или образца костного мозга субъекта-кандидата и измерения уровня растворимого AXL, уровня GAS6, уровня фактора мезенхимальной транскрипции или их сочетания в образце периферической крови или образце костного мозга.

157. Способ по любому из пп. 108-156, дополнительно включающий после стадии введения обследование субъекта на предмет одного или нескольких симптомов диареи, тошноты, рвоты, дисгевзии, анемии и тромбоцитопении.

158. Способ по п. 157, дополнительно включающий снижение суточной дозы тартрата или прекращение лечения, если обнаружен один или несколько симптомов.

159. Способ по любому из пп. 108-158, дополнительно включающий введение субъекту эффективного количества одного или нескольких терапевтических агентов.

160. Способ по п. 159, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов содержат один или несколько ингибиторов тирозинкиназы.

161. Способ по п. 160, отличающийся тем, что один или несколько ингибиторов тирозинкиназы включают ингибитор EGFR.

162. Способ по любому из пп. 159-161, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов содержат ингибитор иммунных контрольных точек.

163. Способ по п. 162, отличающийся тем, что ингибитором иммунной контрольной точки является ингибитор PD-1 или PD-L1.

164. Способ по п. 163, отличающийся тем, что ингибитором иммунных контрольных точек является ингибитор PD-1, которым является пембролизумаб, ниволумаб или их сочетание.

165. Способ по п. 163, отличающийся тем, что ингибитором иммунных контрольных точек является ингибитор PD-L1, которым является атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб или их сочетание.

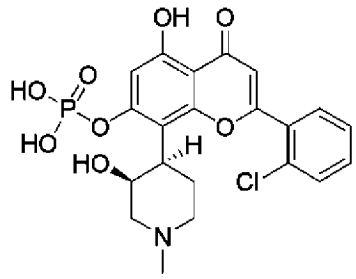
166. Способ по любому из пп. 159-165, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов содержат ингибитор CDK.

167. Способ по п. 166, отличающийся тем, что ингибитором CDK является ингибитор CDK9.

168. Способ по п. 167, отличающийся тем, что ингибитором CDK9 является альвоцидиб или его фармацевтически приемлемая соль или пролекарство.

169. Способ по п. 168, отличающийся тем, что ингибитором CDK9 является пролекарство альвоцидиба.

170. Способ по п. 169, отличающийся тем, что пролекарство имеет следующую структуру (II’):



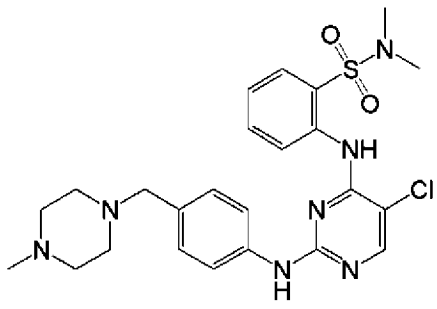
(II')

или его фармацевтически приемлемая соль или цвиттерионная форма.

171. Способ по любому из пп. 159-170, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов включают химиотерапевтические агенты на основе платины.

172. Способ по п. 159, отличающийся тем, что один или несколько терапевтических агентов включают карбоплатин, гемцитабин, бевацизумаб, топотекан, рукапариб, олапариб, нирапариб, ниволумаб, пембролизумаб, атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб, ипилимумаб или их сочетание.

173. Способ лечения рака, включающий введение эффективного количества соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, нуждающемуся в этом, где рак выбирают из группы, состоящей из EGFR+ немелкоклеточного рака легкого; BRAF-, KRAS- или NRAS-мутированной колоректальной карциномы; не поддающейся лечению или рецидивирующей карциномы яичников; BRAF-мутированной меланомы, воспалительного рака молочной железы и трижды негативного рака молочной железы.

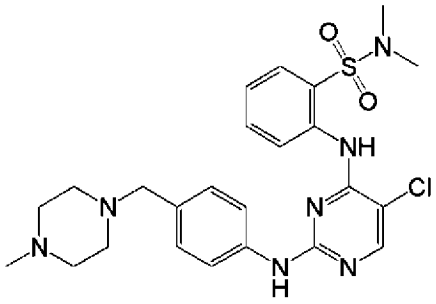
174. Способ по п. 173, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается прогрессирование заболевания после получения одной или нескольких предыдущих противораковых терапий.

175. Способ по п. 173 или п. 174, отличающийся тем, что рак

является устойчивым, трудно поддающимся лечению, вторичным или рецидивирующим раком.

176. Способ по п. 174, отличающийся тем, что одна или несколько предыдущих терапий рака включают гормональный терапевтический агент, химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент или ингибитор поверхностноклеточного рецептора.

177. Способ лечения рака, включающий введение эффективного количества соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли субъекту, нуждающемуся в этом, где субъект страдает распространенным солидным раком или гемопоэтическим раком, причем субъект демонстрирует прогрессирование заболевания после предыдущей химиотерапии, иммунотерапии или их сочетания.

178. Способ по п. 177, отличающийся тем, что солидной опухолью является опухоль костей, органов пищеварения, репродуктивных органов, головы, шеи, легких, сердца, кожи, нервной системы, эндокринной системы, нейроэндокринной системы, мочевыделительной системы или мягких тканей.

179. Способ по п. 177, отличающийся тем, что гемопоэтическим раком является множественная миелома, миелодиспластический синдром (МДС), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый лимфоцитарный лейкоз, хронический лимфогенный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз (С-лимфолейкоз), мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (МЛЛ), мантийноклеточная лимфома, диффузная В-крупноклеточная лимфома, фолликулярная лимфома или неходжкинская лимфома.

180. Способ по любому из пп. 177-179, отличающийся тем, что

предыдущая химиотерапия и/или иммунотерапия включает гормональный терапевтический агент, химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент или ингибитор поверхностноклеточного рецептора.

181. Способ по п. 180, отличающийся тем, что химиотерапевтическим агентом является алкилирующий агент, агент на основе платины, антиметаболит, противораковый антибиотик или противораковый агент растительного происхождения.

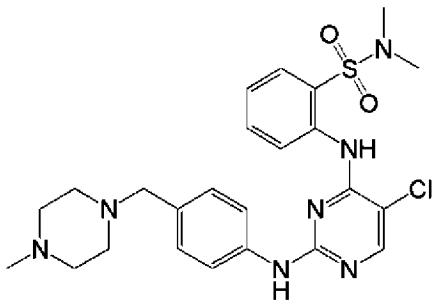
182. Способ по п. 181, отличающийся тем, что химиотерапевтический агент выбирают из группы, состоящей из карбоплатина, цисплатина, мибоплатина, недаплатина и оксалиплатина.

183. Способ по любому из пп. 177-181, отличающийся тем, что субъекта лечат одновременно с химиотерапией, иммунотерапией или их сочетанием.

184. Способ по любому из пп. 177-183, отличающийся тем, что субъект устойчив к иммунотерапии, и при этом способ дополнительно включает в себя введение субъекта такой же иммунотерапии.

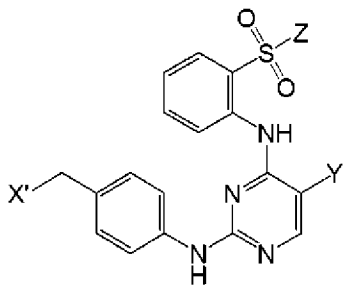
185. Способ по любому из пп. 177-183, отличающийся тем, что субъект устойчив к химиотерапии, включающей ИТК, и при этом способ дополнительно включает проведение такой же химиотерапии для субъекта.

186. Способ получения соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли, где способ включает взаимодействие соединения, имеющего следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли, где:

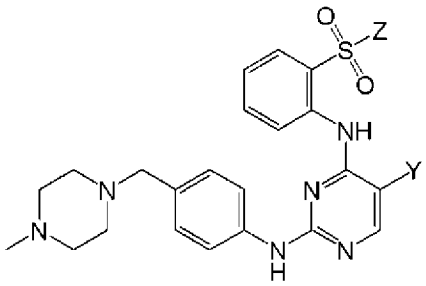
X' является уходящей группой;

Y является галогеном;

Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

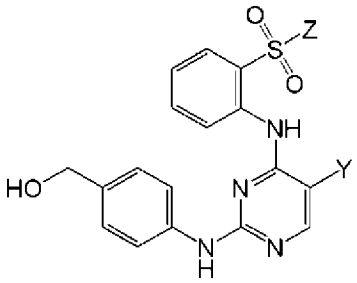
с N-метилпиперазином или его солью с получением соединения, имеющего следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли.

187. Способ по п. 186, дополнительно содержащий этап:

взаимодействие соединения, имеющего следующую структуру:



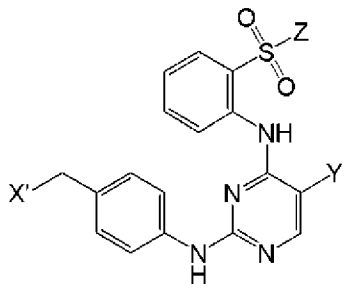
или его фармацевтически приемлемой соли, где:

Y является галогеном;

Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

с активирующим агентом для получения соединения, имеющего структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли.

188. Способ по п. 187, отличающийся тем, что активирующий агент содержит функциональную группу сульфонилхлорида.

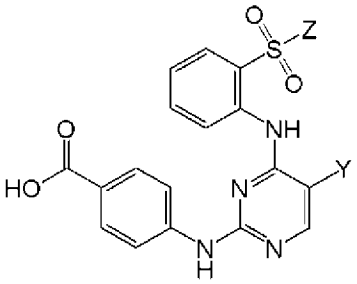
189. Способ по любому из пп. 186-188, отличающийся тем, что X' является галогеном или сульфонатом.

190. Способ по п. 189, отличающийся тем, что X' является хлором.

191. Способ по п. 190, отличающийся тем, что активирующим агентом является тионилхлорид.

192. Способ по п. 187, дополнительно содержащий этап:

взаимодействие соединения, имеющего следующую структуру:



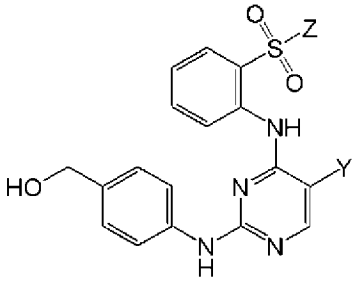
или его фармацевтически приемлемой соли, где:

Y является галогеном;

Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

с восстанавливающим агентом для получения соединения, имеющего структуру:

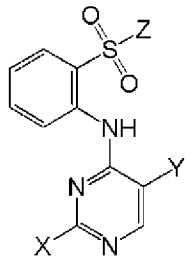


193. Способ по п. 192, отличающийся тем, что восстанавливающим агентом является алюмогидрид лития, диборан, боргидрид натрия, боран или их сочетание.

194. Способ по любому из пп. 186-193, отличающийся тем, что восстанавливающим агентом является боран.

195. Способ по пункту 192, дополнительно содержащий:

взаимодействие соединения, имеющего следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемой соли, где:

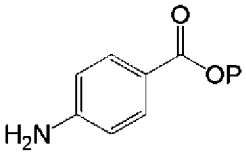
X является уходящей группой;

Y является галогеном;

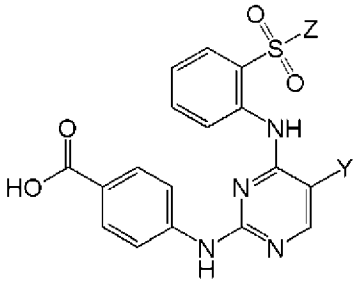
Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$; и

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

с соединением, имеющим следующую структуру:



где P является H или защитной группой, с получением соединения, имеющего следующую структуру:



.

196. Способ по п. 195, отличающийся тем, что X является галогеном или сульфонатом.

197. Способ по п. 196, отличающийся тем, что X является хлором.

198. Способ по любому из пп. 195-197, отличающийся тем, что

P является H.

199. Способ по любому из пп. 186-198, отличающийся тем, что Y является хлором.

200. Способ по любому из пп. 186-199, отличающийся тем, что Z является $-NR^1(R^2)$.

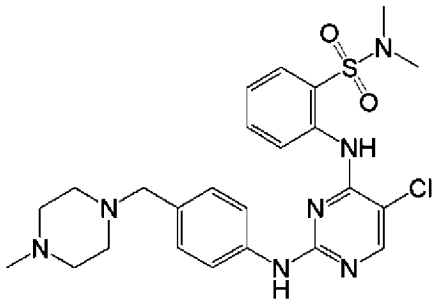
201. Способ по любому из пп. 186-200, отличающийся тем, что R^1 является C_1-C_8 алкилом.

202. Способ по п. 201, отличающийся тем, что R^1 является метилом.

203. Способ по любому из пп. 186-202, отличающийся тем, что R^2 является C_1-C_8 алкилм.

204. Способ по п. 203, отличающийся тем, что R^2 является метилом.

205. Способ получения тартрата соединения структуры (I):



(I)

где способ включает смешивание соединения структуры (I) с винной кислотой.

206. Способ по п. 205, отличающийся тем, что винной кислотой является L-(+)-винная кислота.

207. Способ по п. 205 или п. 206, отличающийся тем, что тартрат имеет кристаллическую форму A, и способ включает:

(a) растворение соединения структуры (I) в растворителе, содержащем анизол и этанол, с получением первого раствора;

(b) добавление раствора (L)-винной кислоты в этаноле к первому раствору с получением второго раствора; и

(c) кристаллизацию тартрата структуры (I) из второго раствора.

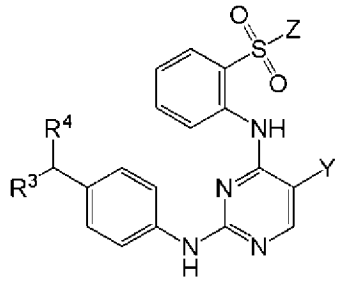
208. Способ по п. 207, отличающийся тем, что растворитель на стадии (a) содержит анизол и этанол в соотношении примерно

2,5:1 (масс./масс.) и/или имеет температуру примерно 70°C.

209. Способ по п. 207 или п. 208, отличающийся тем, что молярное отношение (L)-винной кислоты на стадии (b) к соединению структуры (I) на стадии (a) составляет около 2:1 и/или где раствор винной кислоты добавляют к первому раствору в течение примерно часа.

210. Способ по любому из пп. 207-209, отличающийся тем, что второй раствор охлаждают примерно до 20°C и/или перемешивают в течение примерно 5 часов.

211. Соединение, имеющее следующую структуру (III):



(III)

или его фармацевтически приемлемая соль, стереоизомер или таутомер, где:

Y является галогеном;

Z является галогеном или $-NR^1(R^2)$;

R^1 и R^2 каждый независимо является водородом или C_1-C_8 алкилом,

R^3 является галогеном или OR^a;

R^4 является водородом или оксо; и

R^a является водородом или C_1-C_8 алкилом.

212. Соединение по п. 211, отличающееся тем, что Y является хлором.

213. Соединение по п. 211 или п. 212, отличающееся тем, что Z является $-NR^1(R^2)$.

214. Соединение по п. 213, отличающееся тем, что R^1 и R^2 являются C_1-C_8 алкилом.

215. Соединение по п. 213, отличающееся тем, что R^1 и R^2 являются метилом.

216. Соединение по любому из пп. 211-215, отличающееся тем,

что R^3 является OR^a.

217. Соединение по п. 216, отличающееся тем, что R^a является H.

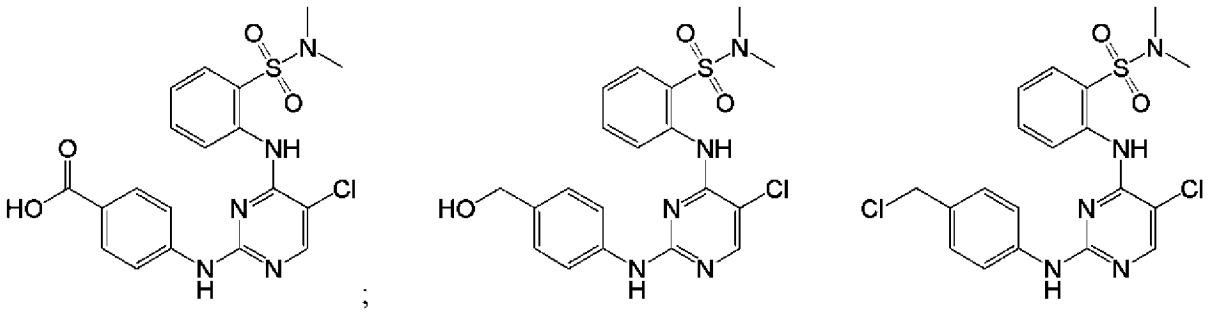
218. Соединение по любому из пп. 211-217, отличающееся тем, что R^3 является галогеном.

219. Соединение по п. 218, отличающееся тем, что R^3 является хлором.

220. Соединение по любому из пп. 211-219, отличающееся тем, что R^4 является водородом.

221. Соединение по любому из пп. 211-220, отличающееся тем, что R^4 является оксо.

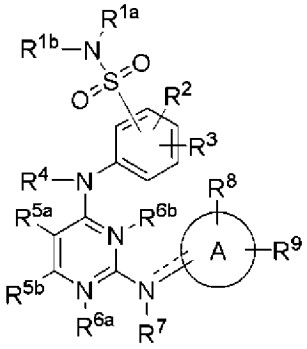
222. Соединение по любому из пп. 211-221, отличающееся тем, что соединение имеет одну из следующих структур:



;

или

223. Соединение, имеющее следующую структуру (I):



(I)

или его стереоизомер, фармацевтически приемлемая соль, таутомер или пролекарство,

где:

A является 6-членным ароматическим кольцом или 6-членным карбоциклическим кольцом;

R^{1a} и R^{1b} каждый независимо является H, C_1-C_6 алкилом или -

OH;

R^2 и R^3, каждый независимо является H, C_1-C_6алкилом или галогеном;

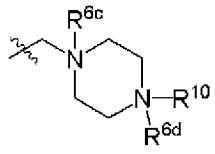
R^4 является H, C_1-C_6алкилом или –OH;

R^{5a} и R^{5b} каждый независимо является H, C_1-C_6алкилом или галогеном;

Каждый из R^{6a}, R^{6b}, R^{6c} и R^{6d} независимо отсутствует или является –O-;

R^7 является H, C_1-C_6алкилом, –OH или отсутствует;

R^8 отсутствует или имеет следующую структуру:



;

R^9 отсутствует или является алкенилом при условии, что присутствует, по меньшей мере, один из R^8 или R^9;

R^{10} является H или C_1-C_6алкилом; и

---- является двойной или одинарной связью; и

все валентности удовлетворены;

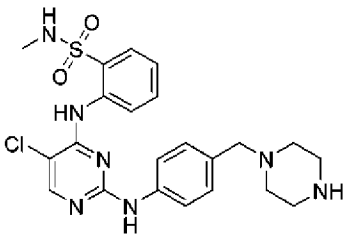
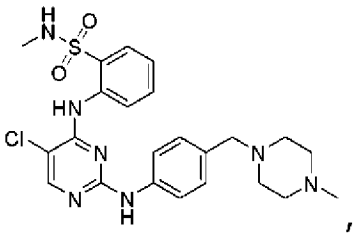
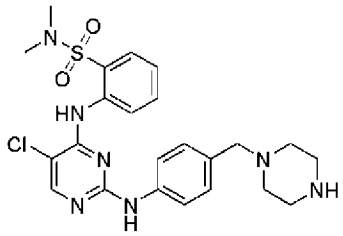
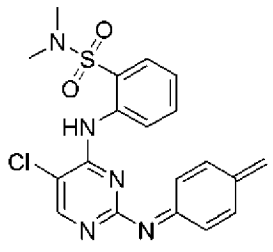
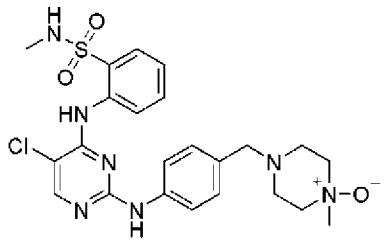
при условии, что если R^{1a} и R^{1b} оба являются метилом, то:

a. по меньшей мере, один из R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d} и R^9 является –O;

б. R^7 является C_1-C_6алкилом, –OH или отсутствует; и/или

с. R^{10} является H.

224. Соединение по п. 223, отличающееся тем, что соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

или


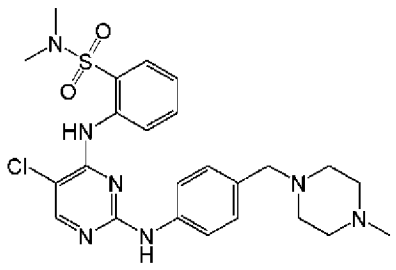
и их фармацевтически приемлемых солей.

225. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп. 211-224 или его стереоизомер, фармацевтически приемлемую соль, таутомер или пролекарство, а также фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент.

226. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение эффективного количества соединения по любому из пп. 211-224, или его стереоизомера, фармацевтически приемлемой соли, таутомера или пролекарства, или фармацевтической композиции по п. 223.

227. Способ определения метаболического профиля субъекта, включающий: контакт популяции клеток субъекта с терапевтическим агентом; и определение концентрации первого метаболита, который является соединением по любому из пп. 211-224.

228. Способ по п. 227, отличающийся тем, что терапевтическим средством является соединение, имеющее следующую структуру (VI):


(IV),

или его фармацевтически приемлемая соль или кристаллическая форма.

229. Способ по любому из пп. 36, 108, 177 и 226,

отличающийся тем, что раком является меланома, рак груди или опухоль мозга.

230. Способ по п. 229, отличающийся тем, что меланомой является метастатическая меланома.

231. Способ по п. 230, отличающийся тем, что раком молочной железы является воспалительный рак молочной железы и/или трижды негативный рак молочной железы.

232. Способ по п. 229, отличающийся тем, что опухолью головного мозга является мультиформная глибластома (МФГ).

233. Способ по любому из пп. 229-232, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается прогрессирование, повтор или рецидив заболевания после лечения иммунотерапией.

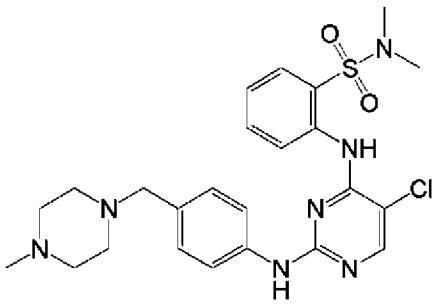
234. Способ по любому из пп. 229-233, дополнительно включающий введение субъекту иммунотерапевтического агента.

235. Способ по п. 234, отличающийся тем, что иммунотерапией является ингибитор контрольной точки или ингибитор CTLA-4.

236. Способ по п. 234, отличающийся тем, что иммунотерапевтическим агентом является пембролизумаб.

237. Способ по любому из пп. 173-185, отличающийся тем, что способ проводят в условиях, изложенных в любом из пп. 69-72 и 78-107.

238. Способ лечения асцита у субъекта, нуждающегося в этом, где способ включает введение субъекту соединения структуры (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемой соли, где асцит вызван раком.

239. Способ по п. 238, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества тартрата по любому из п.п. 1-4 или кристаллической формы по любому из п.п. 5-23, или

фармацевтической композиции по любому из п.п. 24-32 или стандартной дозы по любому из п.п. 33-35.

240. Способ по п. 239, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества тартрата, имеющего молярное отношение винной кислоты к соединению структуры (I) около 2:1.

241. Способ по п. 239, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества кристаллической формы А.

242. Способ по любому из п.п. 238-241, где раком является гематологический рак или солидная опухоль.

243. Способ по любому из п.п. 238-242, где раком является рак яичников.

244. Способ по любому из п.п. 238-243, где раком является светлоклеточная карцинома яичников.

245. Способ лечения асцита у субъекта, нуждающегося в этом, где способ включает введение субъекту соединения по п. 223 или 224 или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции по п. 225, где асцит вызван раком.

246. Способ по п. 245, где раком является гематологический рак или солидная опухоль.

247. Способ по п. 245 или 246, где раком является рак яичников.

248. Способ по любому из п.п. 245-247, где раком является светлоклеточный рак яичников.

249. Способ обращения эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) при раке, где способ включает введение субъекту, имеющему такой рак, терапевтически эффективного количества тартрата по любому из п.п. 1-4, кристаллической формы по любому из п.п. 5-23, фармацевтической композиции по любому из п.п. 24-32 или стандартной дозы по любому из п.п. 33-35.

250. Способ по п. 249, где раком является солидная опухоль или гемопоэтический рак.

251. Способ по пункту 250, где раком является множественная миелома, миелодиспластический синдром (МДС), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый

лимфоцитарный лейкоз, хронический лимфогенный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз (С-лимфолейкоз), мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (МЛЛ), мантийноклеточная лимфома, диффузная В-крупноклеточная лимфома, фолликулярная лимфома или неходжкинская лимфома.

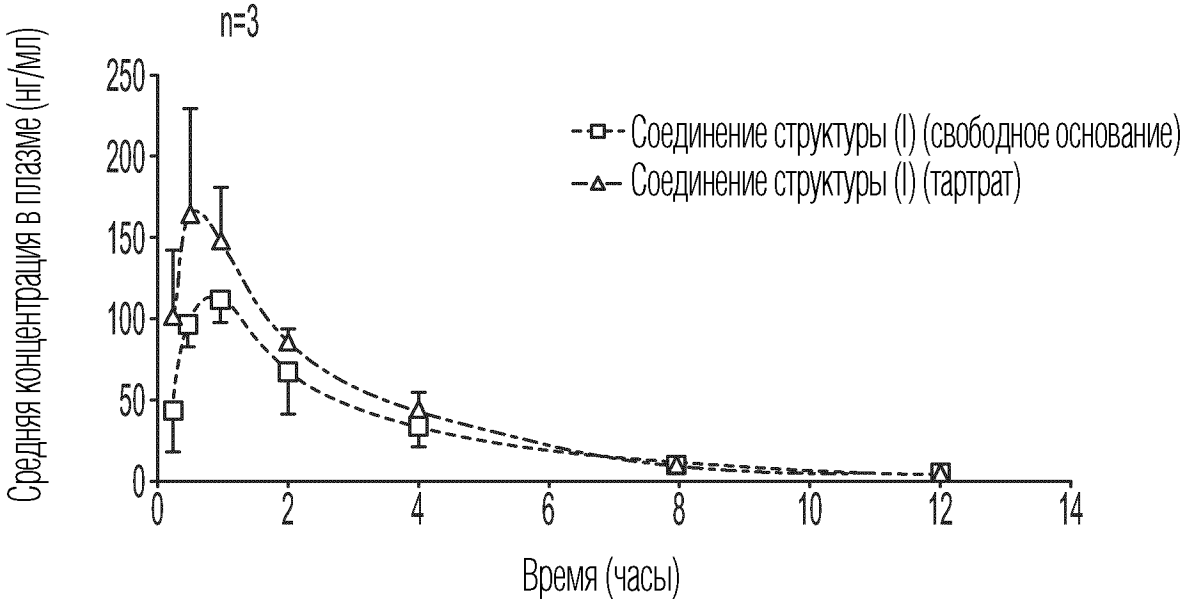
252. Способ по п. 250, где раком является немелкоклеточный рак легких (НМКРЛ), колоректальная карцинома (КРК), рак яичников, рак яичников, меланома, карцинома молочной железы, нейроэндокринная карцинома, аденокарцинома простаты, холангиокарцинома, карцинома матки или рак поджелудочной железы.

253. Способ по любому из п.п. 249-252, где обращение ЭМП сопровождается лечение одним или более дополнительными терапевтическими агентами.

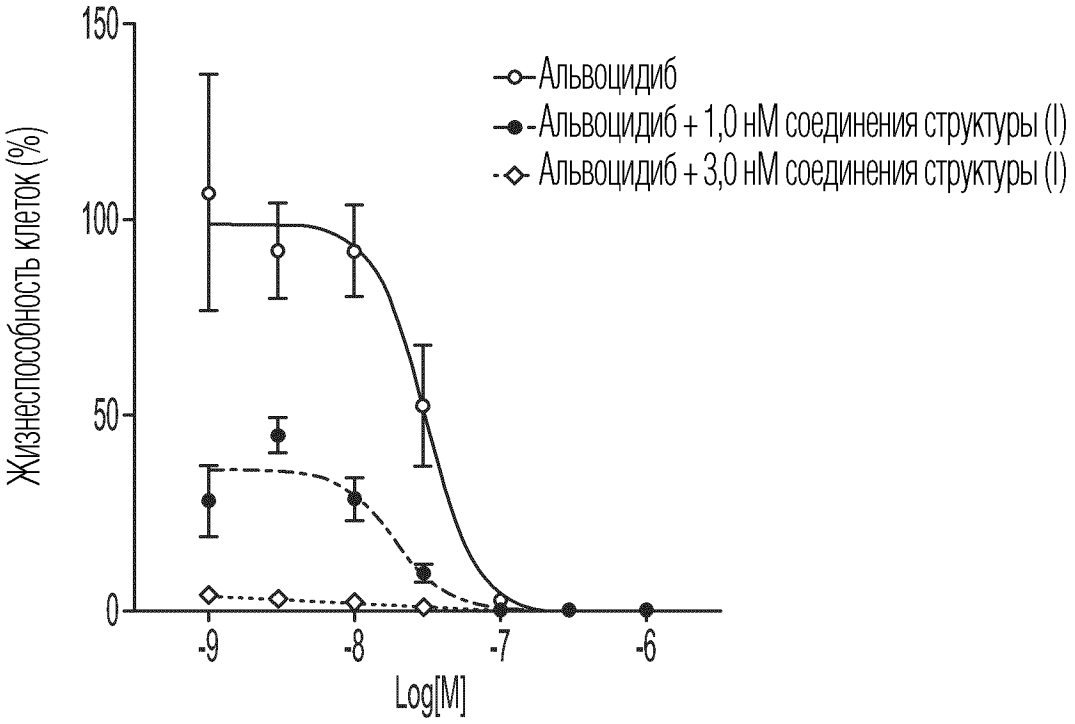
254. Способ по п. 253, где один или более дополнительных терапевтических агентов независимо выбирают из ингибитора иммунных контрольных точек, ингибитора EGFR, ингибитора PARP или сочетания ингибитора BRAF и ингибитора MEK.

Средняя концентрация в плазме
Концентрация (нг/мл)
10000
1000
100
10
1
0
4
8
12
16
20
24
Время (часы)
Соединение структуры (I)
Соединение структуры (I) (фосфат)
Соединение структуры (I) (тартрат)
Соединение структуры (I) (малат)
Соединение структуры (I) (сукцинат)
Соединение структуры (I) (бензолсульфонат)

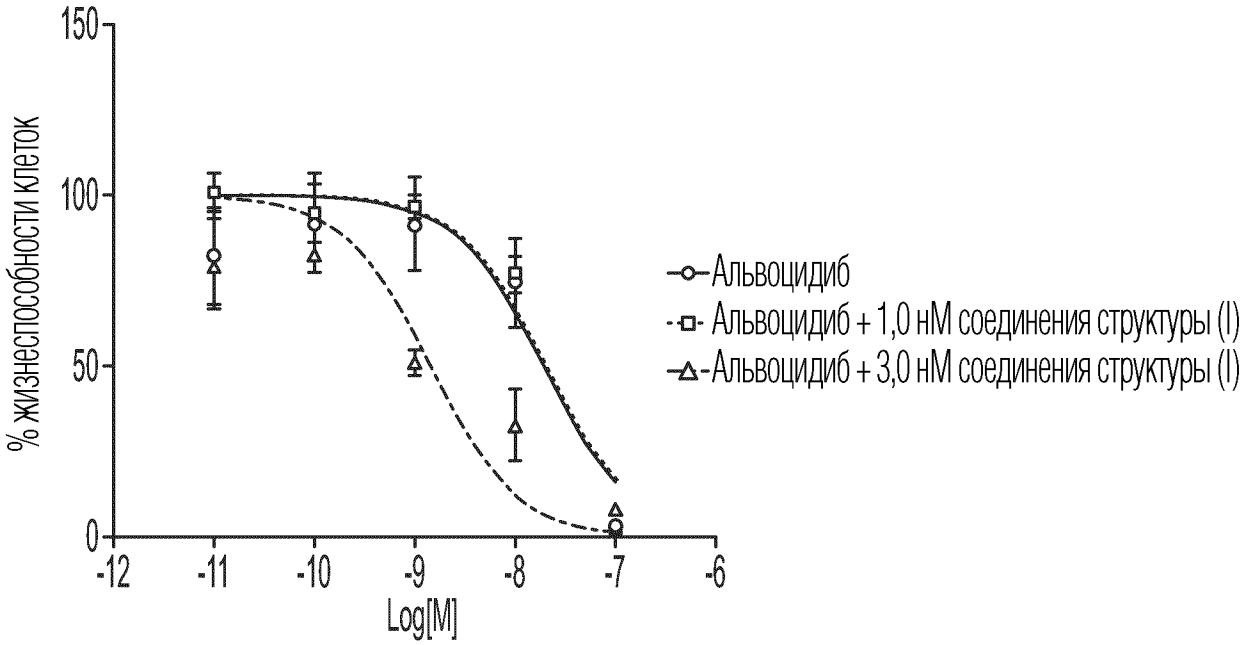
ФИГ. 1


n=3
Средняя концентрация в плазме (нг/мл)
250
200
150
100
50
0
0
2
4
6
8
10
12
14
Время (часы)
Соединение структуры (I) (свободное основание)
Соединение структуры (I) (тартрат)

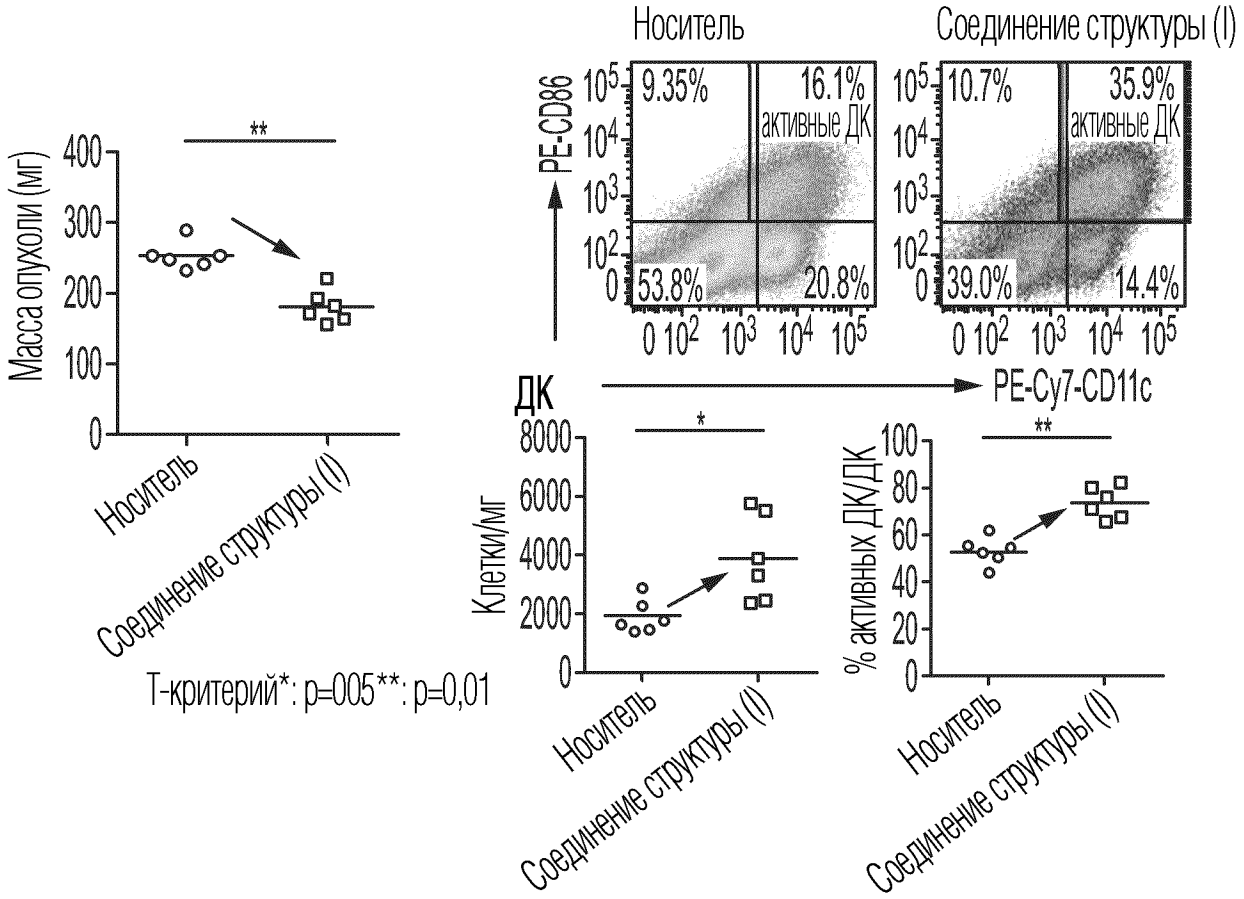
ФИГ. 2


150
100
50
0
Жизнеспособность клеток (%)
-9
-8
-7
-6
Log[M]
Альвоцидиб
Альвоцидиб + 1,0 нМ соединения структуры (I)
Альвоцидиб + 3,0 нМ соединения структуры (I)

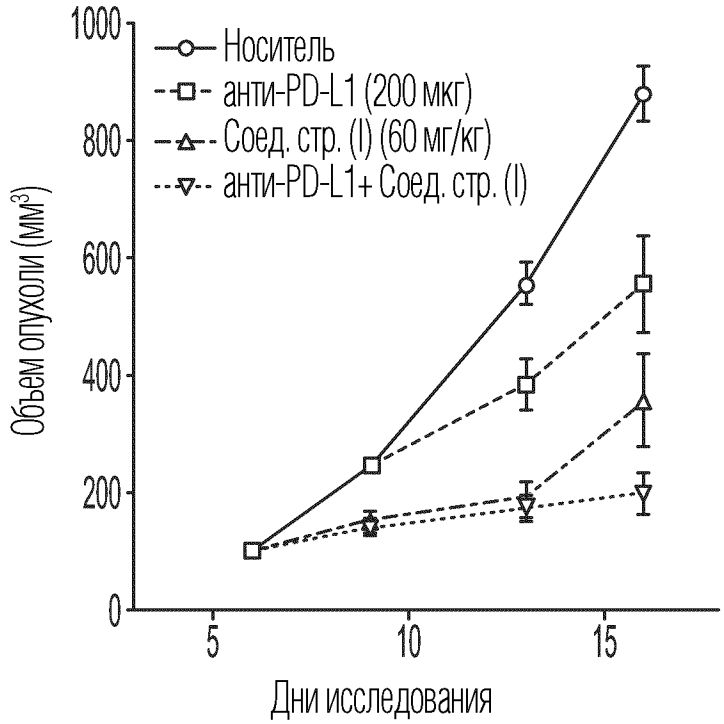
ФИГ. 3


150
100
50
0
% жизнеспособности клеток
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log[M]
Альвоцидиб
Альвоцидиб + 1,0 нМ соединения структуры (I)
Альвоцидиб + 3,0 нМ соединения структуры (I)

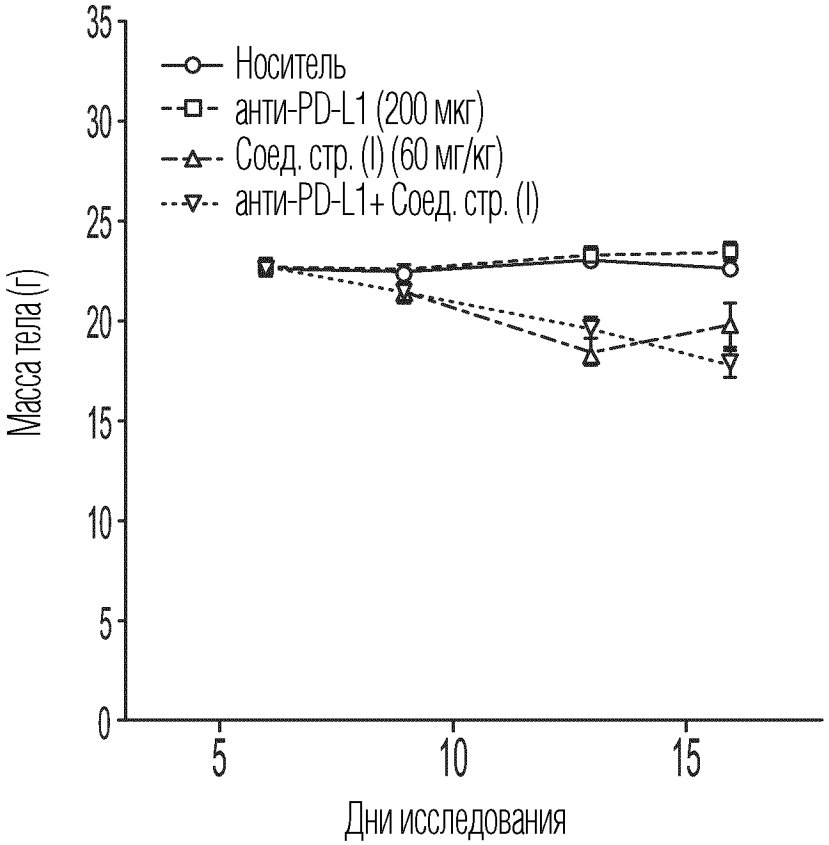
ФИГ. 4


Носитель
Соединение структуры (I)
PE-CD86
9.35%
16.1%
активные ДК
53.8%
20.8%
10.7%
35.9%
активные ДК
39.0%
14.4%
ДК
PE-Cy7-CD11c
Масса опухоли (мг)
**
Носитель
Соединение структуры (I)
Клетки/мг
*
% активных ДК/ДК
**
Носитель
Соединение структуры (I)
Носитель
Соединение структуры (I)
Т-критерий*: p=005**: p=0,01

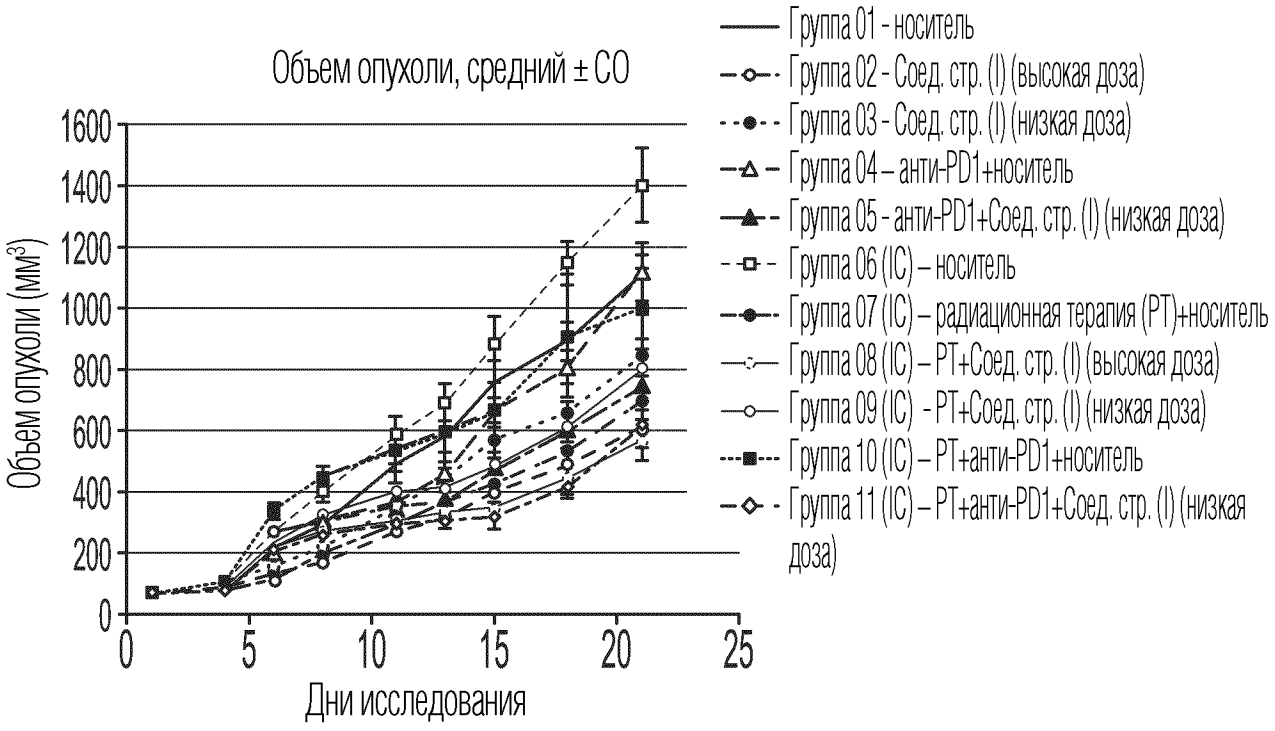
ФИГ. 5


Носитель
анти-PD-L1 (200 мкг)
Соед. стр. (I) (60 мг/кг)
анти-PD-L1+ Соед. стр. (I)
Объем опухоли (мм3)
Дни исследования

ФИГ. 6A


Носитель
анти-PD-L1 (200 мкг)
Соед. стр. (I) (60 мг/кг)
анти-PD-L1+ Соед. стр. (I)
Масса тела (г)
Дни исследования

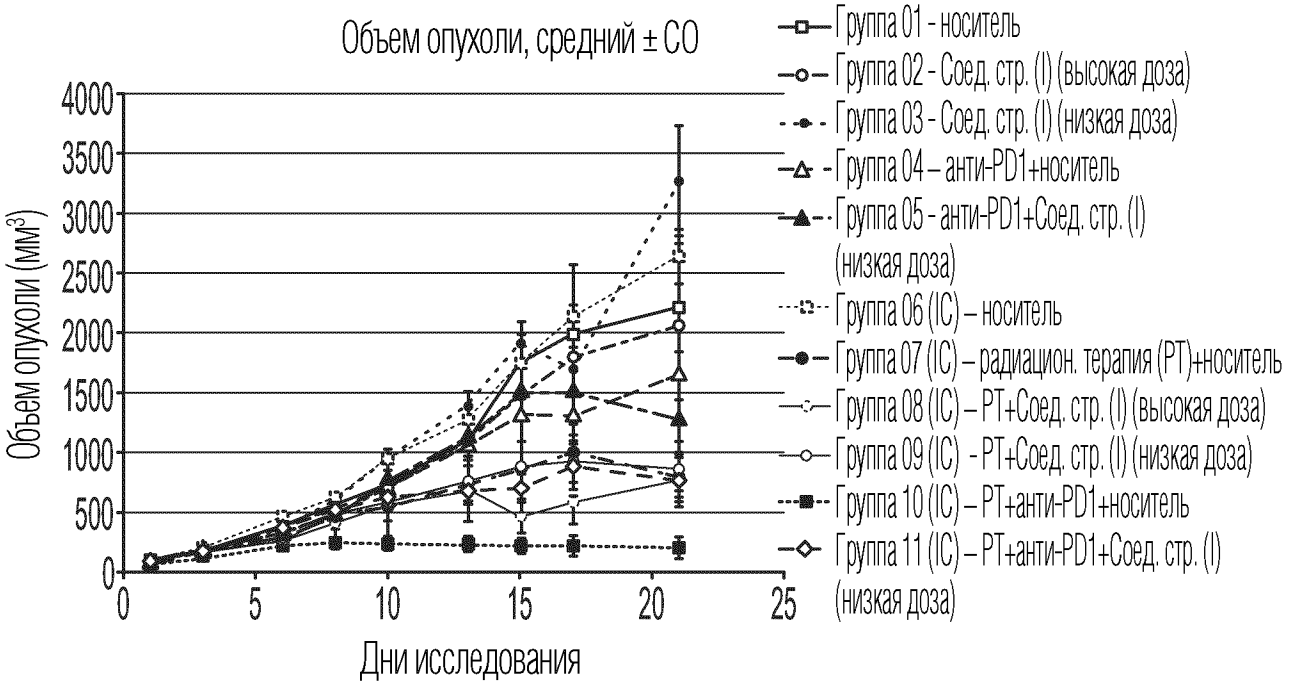
ФИГ. 6B


Объем опухоли, средний ± СО
Объем опухоли (мм³)
Дни исследования
Группа 01 - носитель
Группа 02 - Соед. стр. (I) (высокая доза)
Группа 03 - Соед. стр. (I) (низкая доза)
Группа 04 – анти-PD1+носитель
Группа 05 - анти-PD1+Соед. стр. (I) (низкая доза)
Группа 06 (IC) – носитель
Группа 07 (IC) – радиационная терапия (РТ)+носитель
Группа 08 (IC) – РТ+Соед. стр. (I) (высокая доза)
Группа 09 (IC) - РТ+Соед. стр. (I) (низкая доза)
Группа 10 (IC) – РТ+анти-PD1+носитель
Группа 11 (IC) – РТ+анти-PD1+Соед. стр. (I) (низкая доза)

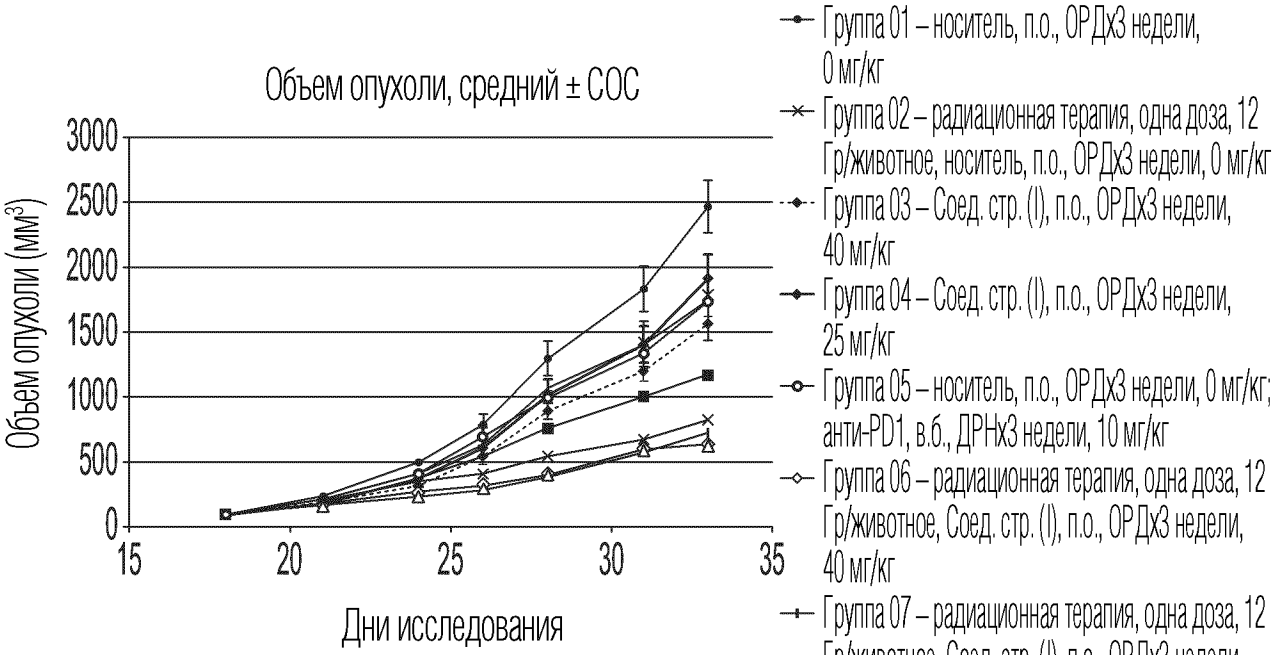
ФИГ. 7

Объем опухоли, средний ± СО
Объем опухоли (мм3)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
Дни исследования
Группа 01 – носитель
Группа 02 - Соед. стр. (I) (высокая доза)
Группа 03 - Соед. стр. (I) (низкая доза)
Группа 04 – анти-PD1+носитель
Группа 05 - анти-PD1+Соед. стр. (I) (низкая доза)
Группа 06 (IC) – носитель
Группа 07 (IC) – радиацион. терапия (РТ)+носитель
Группа 08 (IC) – РТ+Соед. стр. (I) (высокая доза)
Группа 09 (IC) - РТ+Соед. стр. (I) (низкая доза)
Группа 10 (IC) – РТ+анти-PD1+носитель
Группа 11 (IC) – РТ+анти-PD1+Соед. стр. (I) (низкая доза)

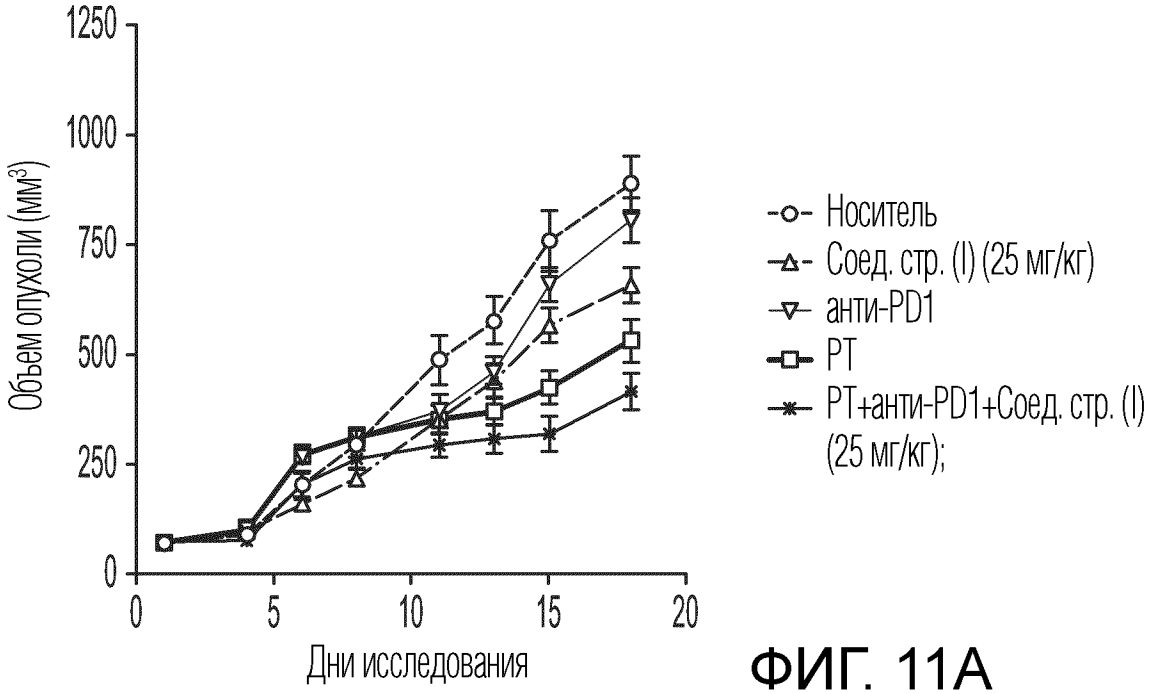
ФИГ. 8


Объем опухоли, средний ± СО
Объем опухоли (мм3)
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
Дни исследования
Группа 01 - носитель
Группа 02 - Соед. стр. (I) (высокая доза)
Группа 03 - Соед. стр. (I) (низкая доза)
Группа 04 – анти-PD1+носитель
Группа 05 - анти-PD1+Соед. стр. (I) (низкая доза)
Группа 06 (IC) – носитель
Группа 07 (IC) – радиацион. терапия (РТ)+носитель
Группа 08 (IC) – РТ+Соед. стр. (I) (высокая доза)
Группа 09 (IC) - РТ+Соед. стр. (I) (низкая доза)
Группа 10 (IC) – РТ+анти-PD1+носитель
Группа 11 (IC) – РТ+анти-PD1+Соед. стр. (I) (низкая доза)

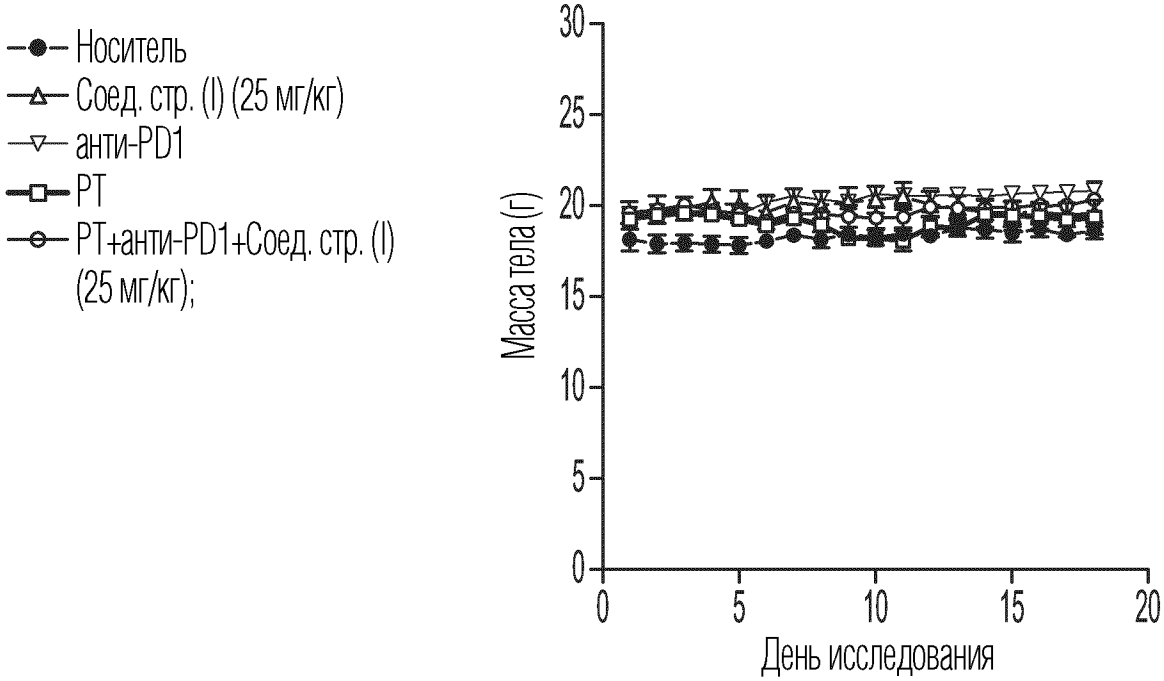
ФИГ. 9



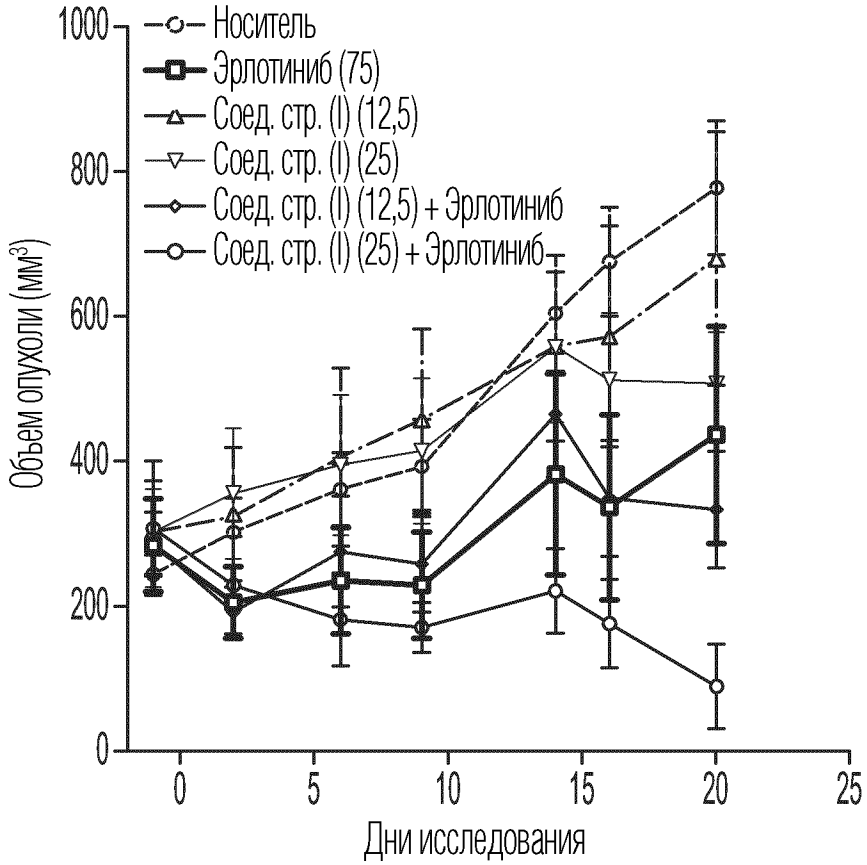
ФИГ. 10



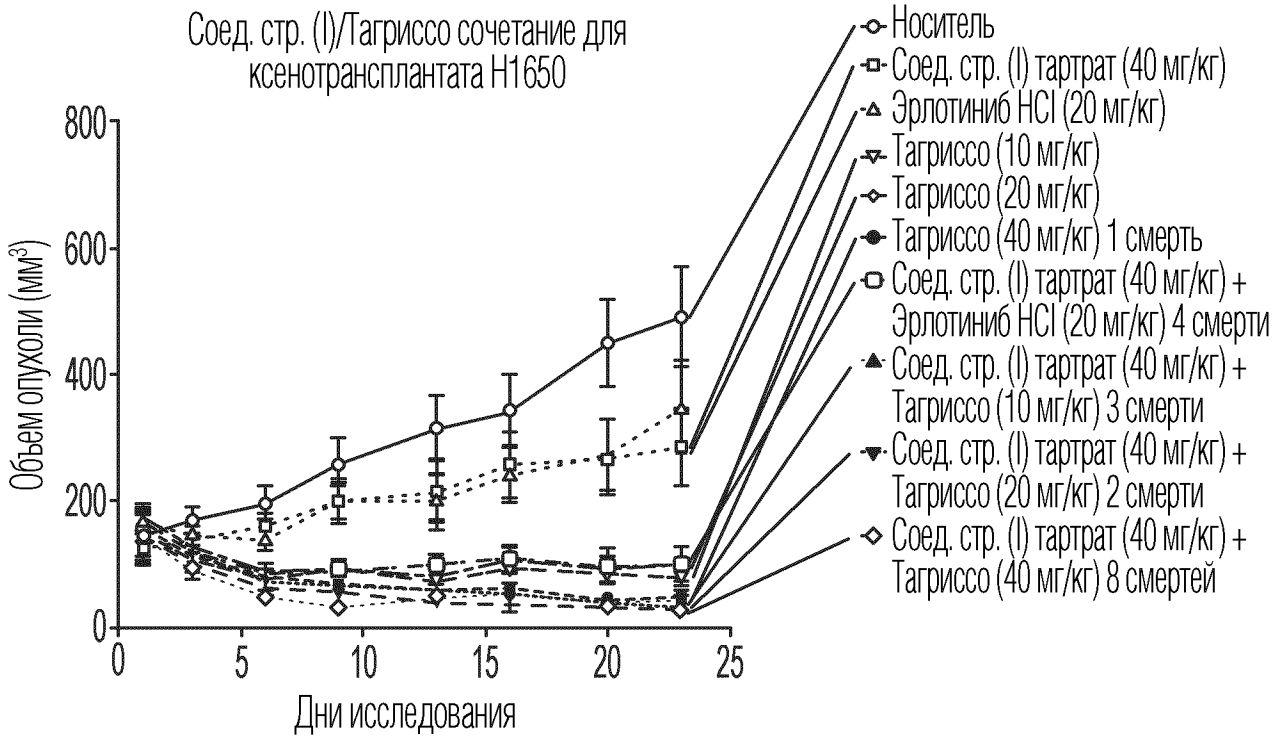
ФИГ. 11А



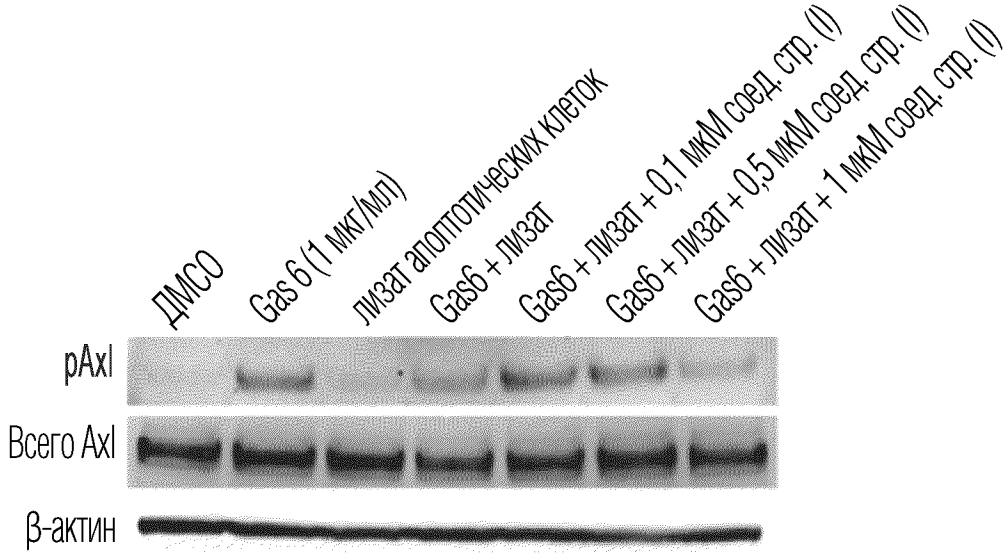
ФИГ. 11В



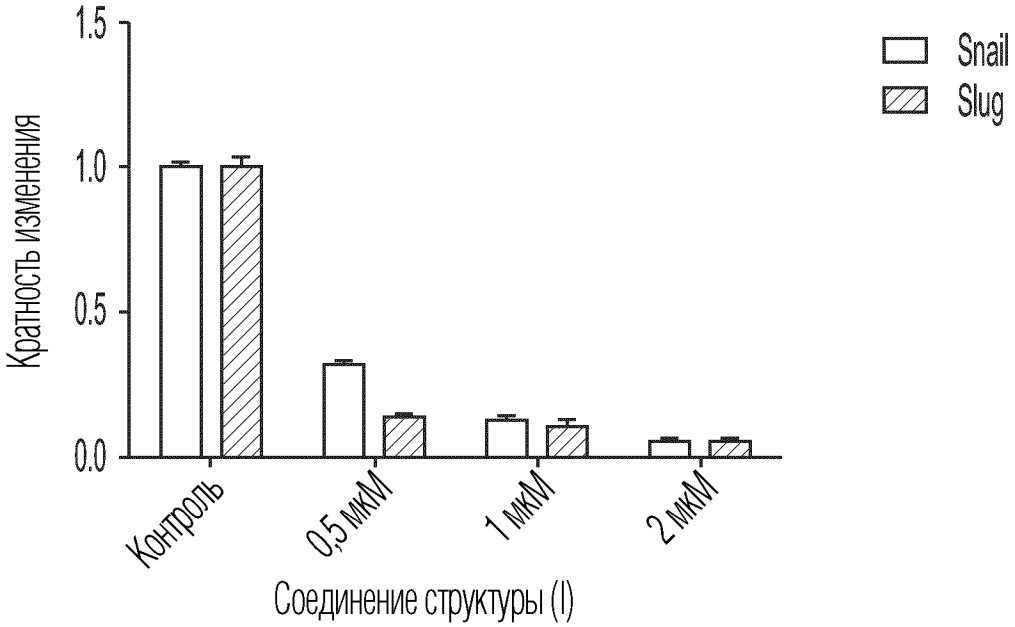
ФИГ. 12


Соед. стр. (I)/Тагриссо сочетание для ксенотрансплантата H1650
Объем опухоли (мм3)
800
600
400
200
0
0
5
10
15
20
25
Дни исследования
Носитель
Соед. стр. (I) тартрат (40 мг/кг)
Эрлотиниб HCl (20 мг/кг)
Тагриссо (10 мг/кг)
Тагриссо (20 мг/кг)
Тагриссо (40 мг/кг) 1 смерть
Соед. стр. (I) тартрат (40 мг/кг) + Эрлотиниб HCl (20 мг/кг) 4 смерти
Соед. стр. (I) тартрат (40 мг/кг) + Тагриссо (10 мг/кг) 3 смерти
Соед. стр. (I) тартрат (40 мг/кг) + Тагриссо (20 мг/кг) 2 смерти
Соед. стр. (I) тартрат (40 мг/кг) + Тагриссо (40 мг/кг) 8 смертей

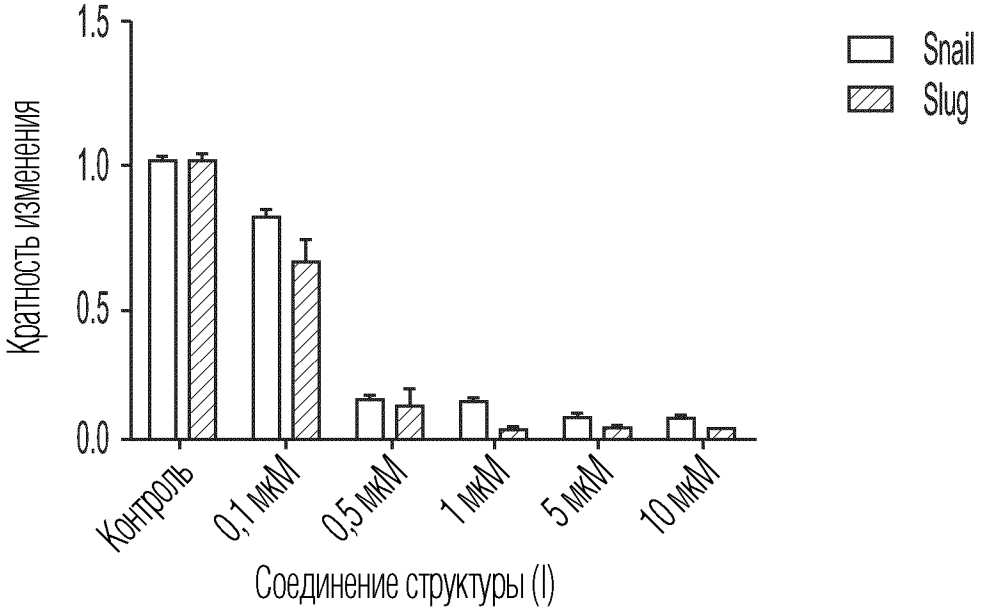
ФИГ. 13


ДМСО
Gas 6 (1 мкг/мл)
лизат апоптотических клеток
Gas6 + лизат
Gas6 + лизат + 0,1 мкМ соед. стр. (I)
Gas6 + лизат + 0,5 мкМ соед. стр. (I)
Gas6 + лизат + 1 мкМ соед. стр. (I)
pAxl
Всего Axl
β-актин

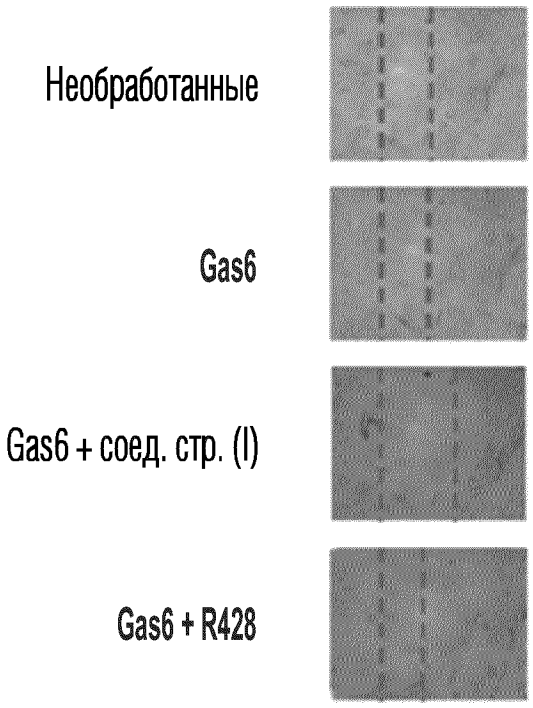
ФИГ. 14



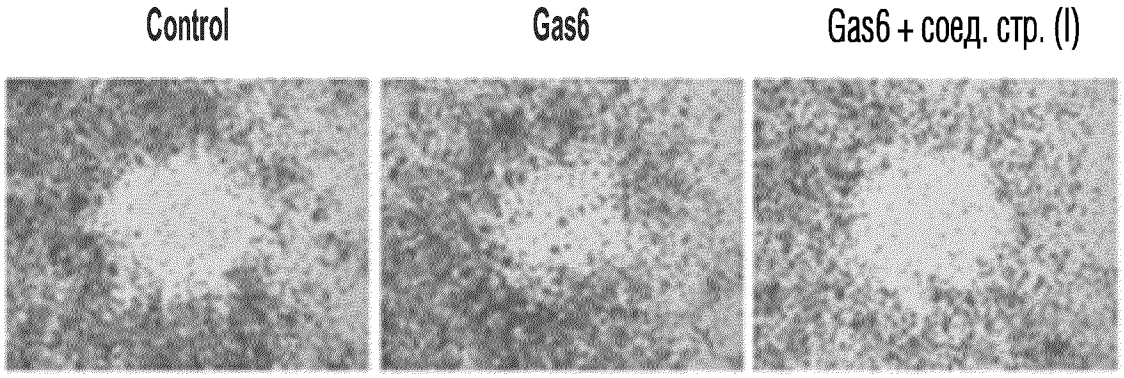
ФИГ. 15A



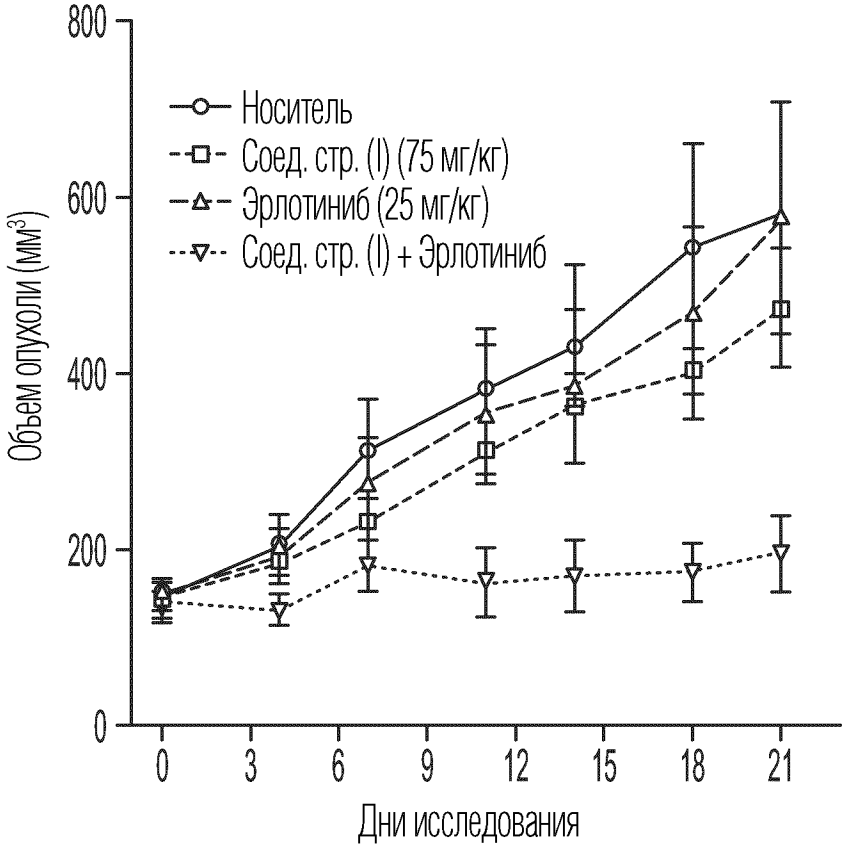
ФИГ. 15B



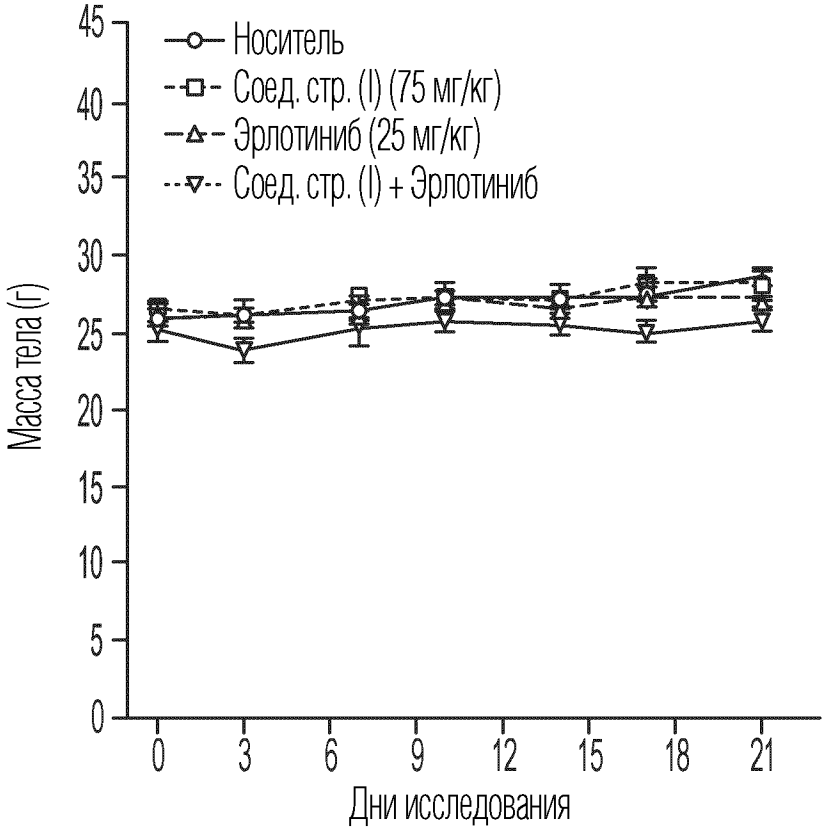
ФИГ. 16A



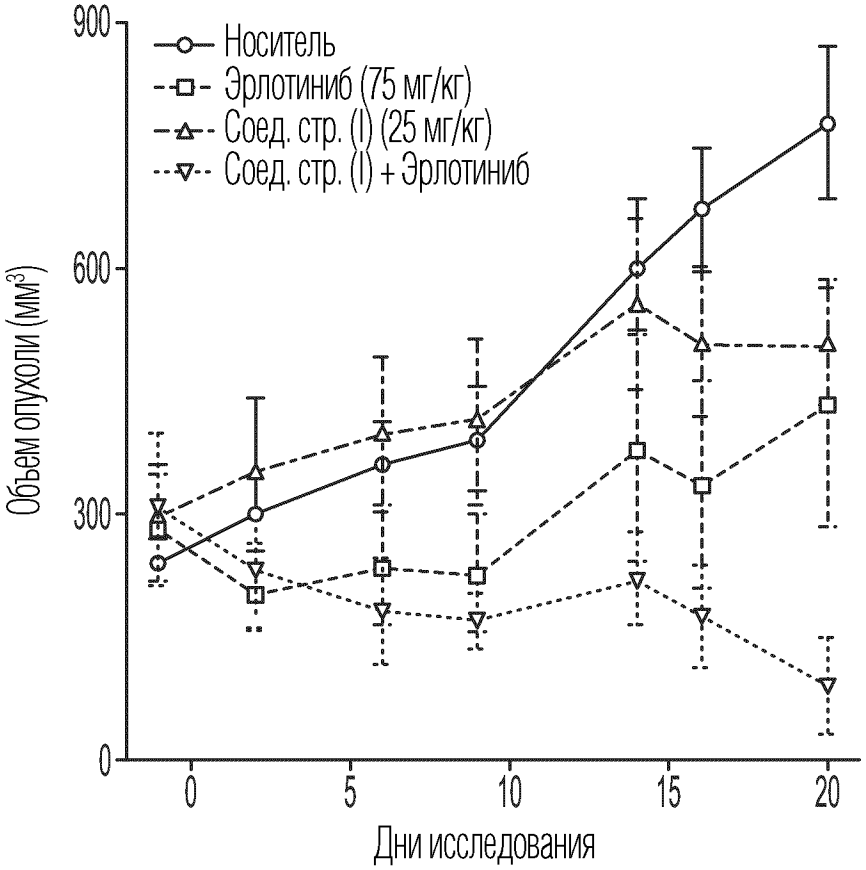
ФИГ. 16B



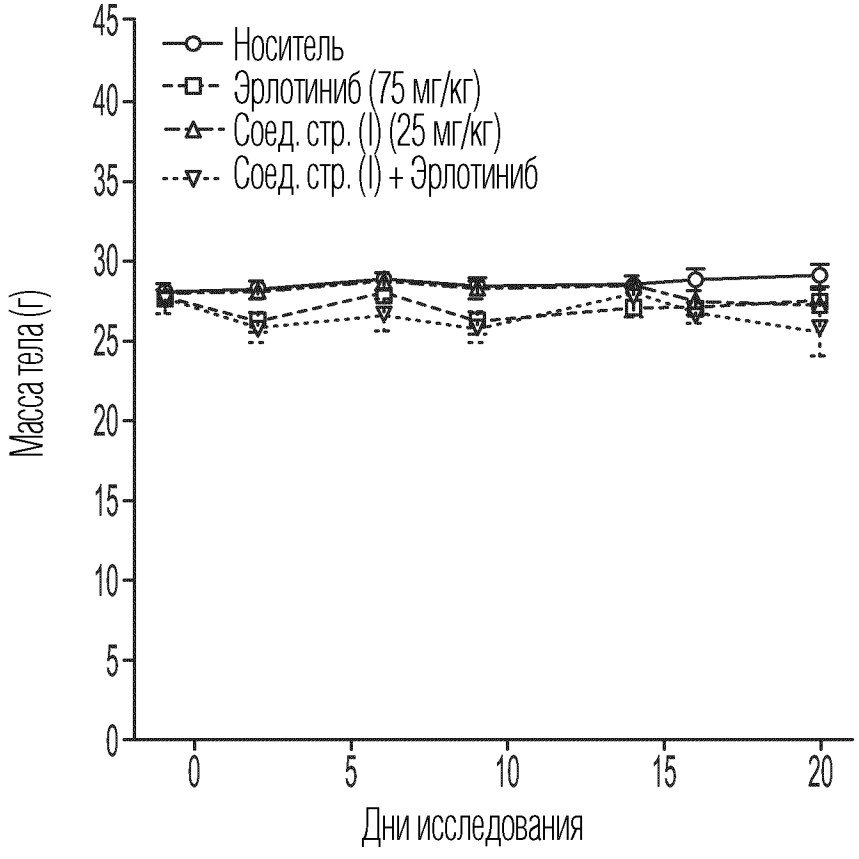
ФИГ. 17A



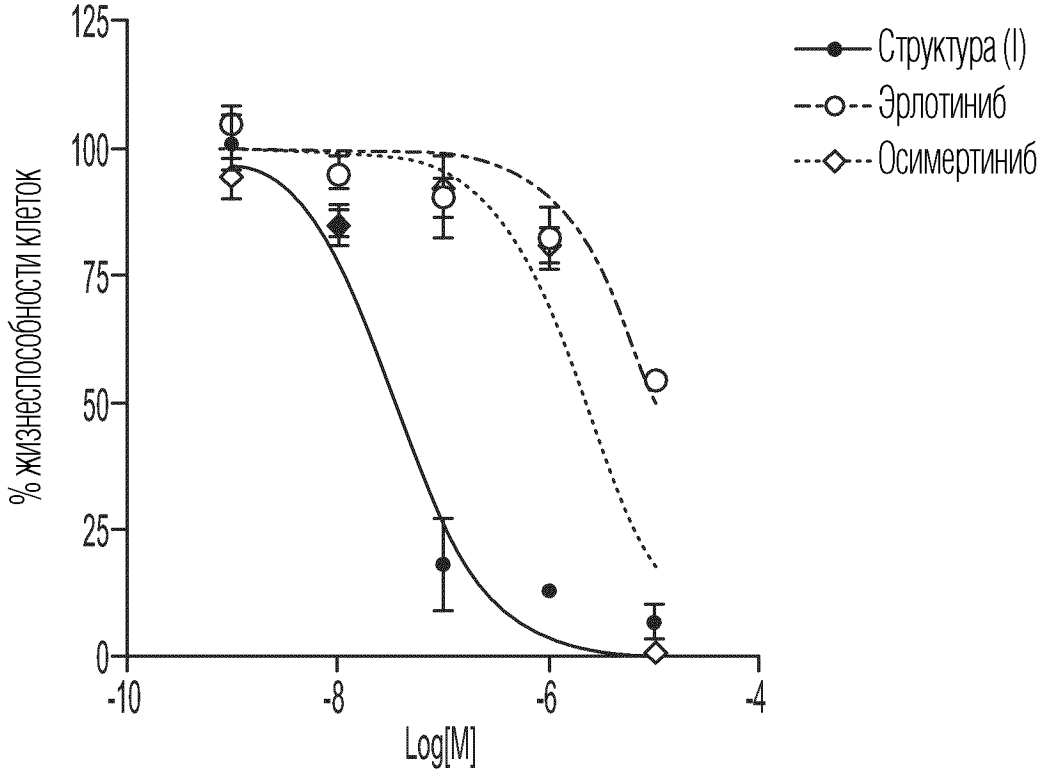
ФИГ. 17B



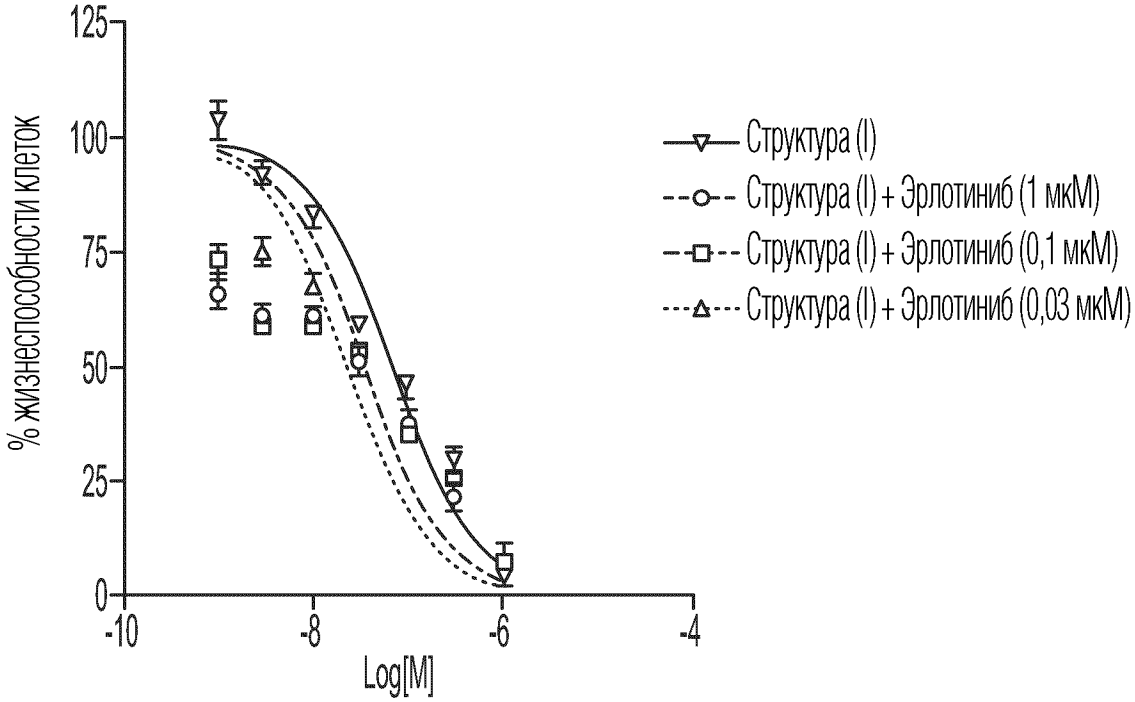
ФИГ. 18A



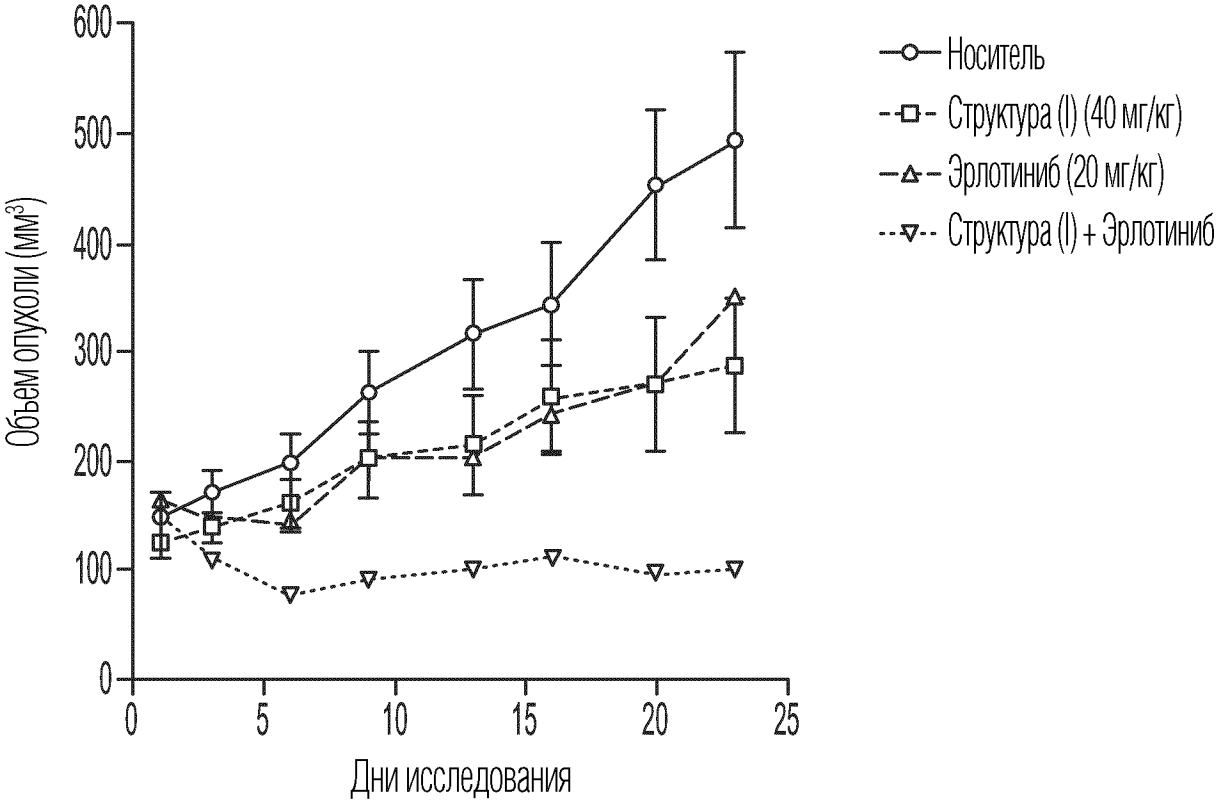
ФИГ. 18B



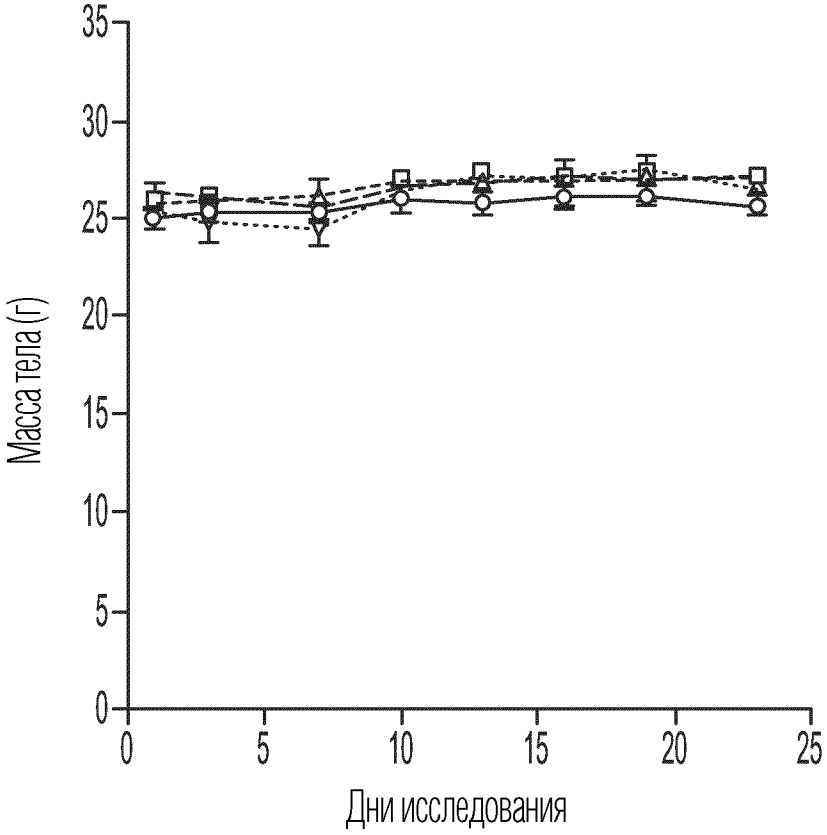
ФИГ. 18C



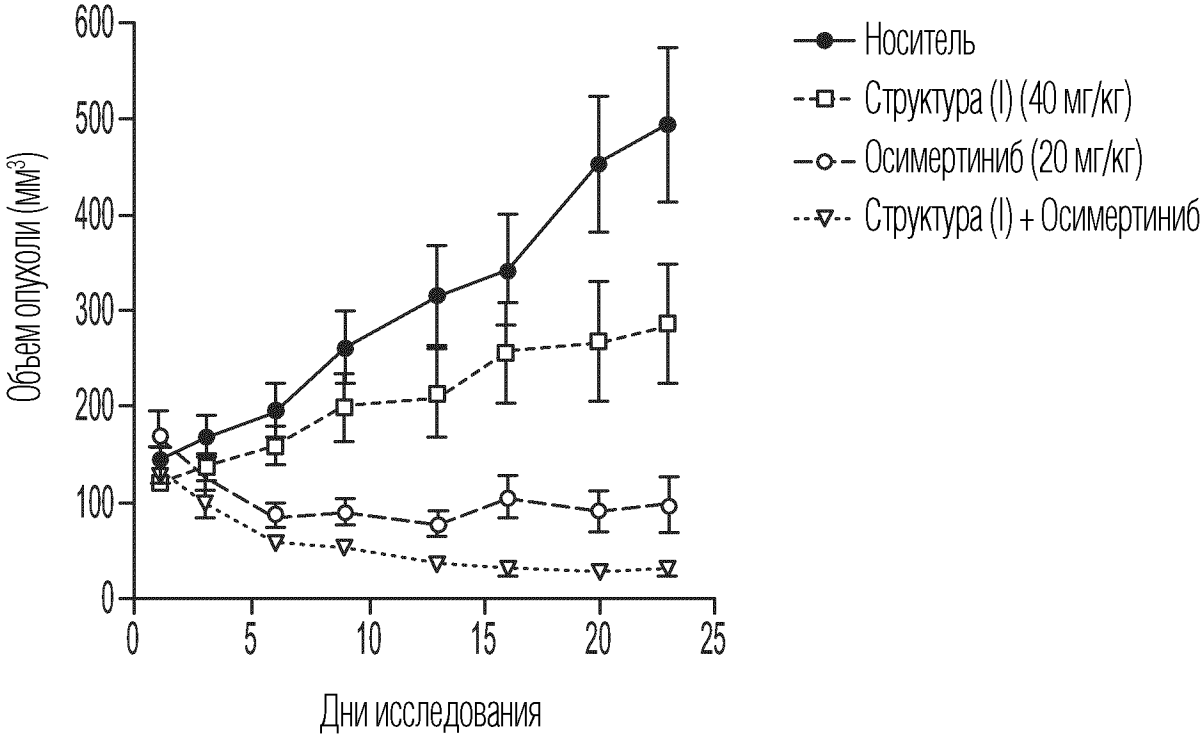
ФИГ. 18D



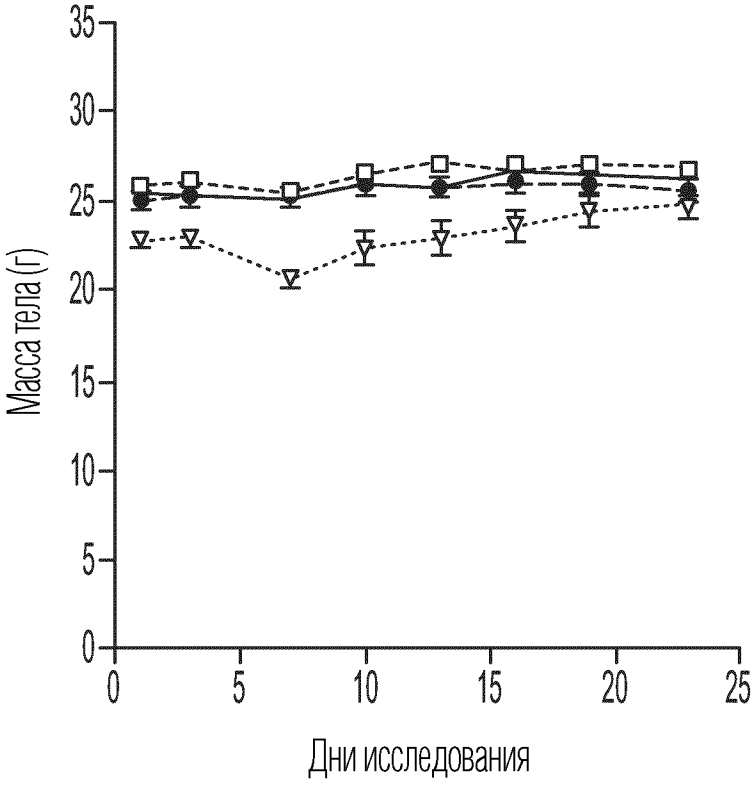
ФИГ. 18E



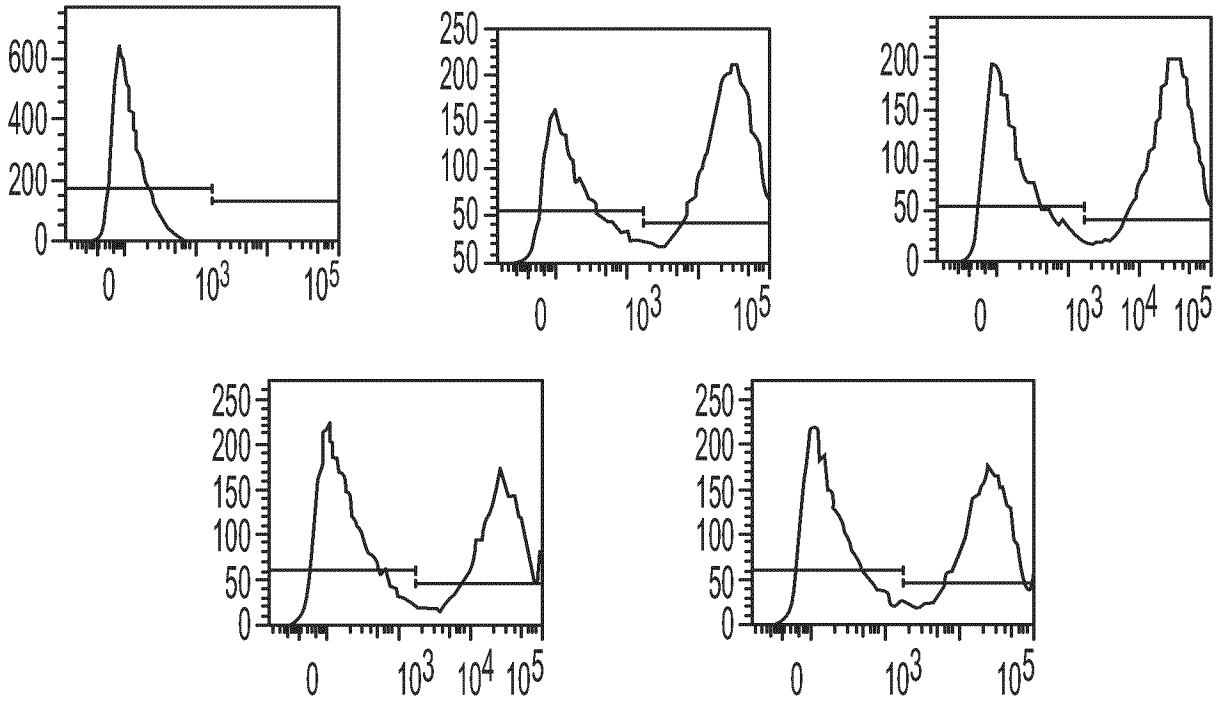
ФИГ. 18F



ФИГ. 18G

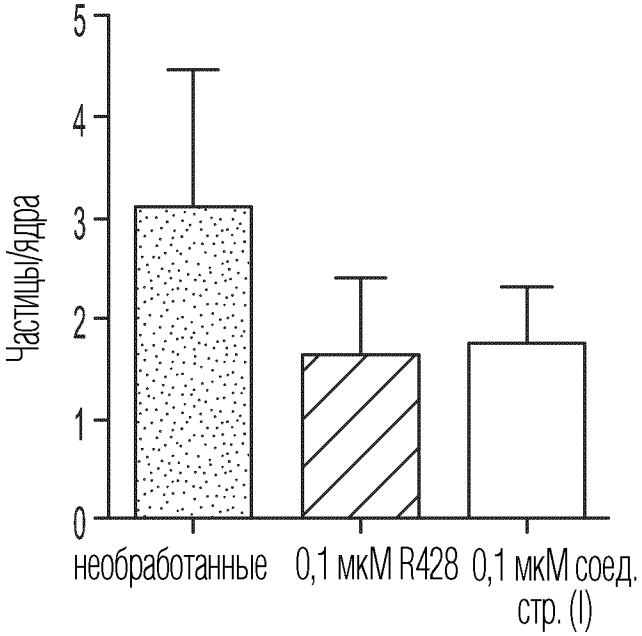


ФИГ. 18H

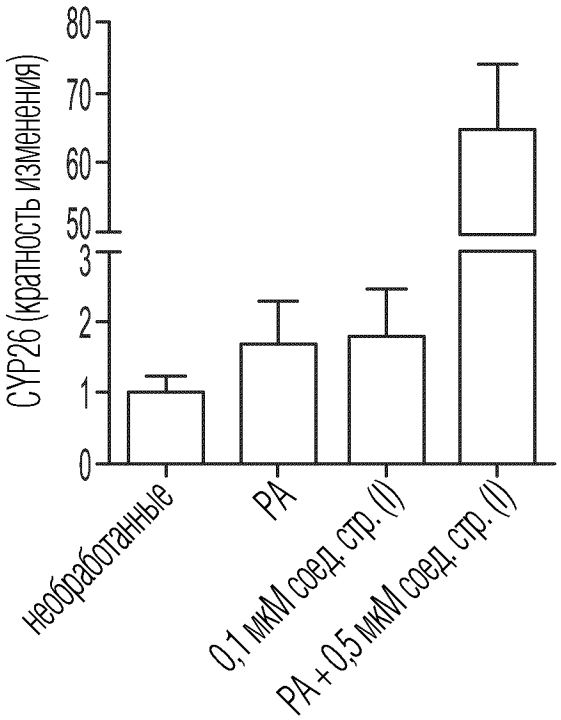


Лечение	Не окрашенные	- Gas6	+ Gas6	+Gas6 + 0,05 мкМ Соед. стр. (I)	+Gas6 + 0,01 мкМ Соед. стр. (I)
% положит.	0.0	61.2	56.1	45.9	49.6

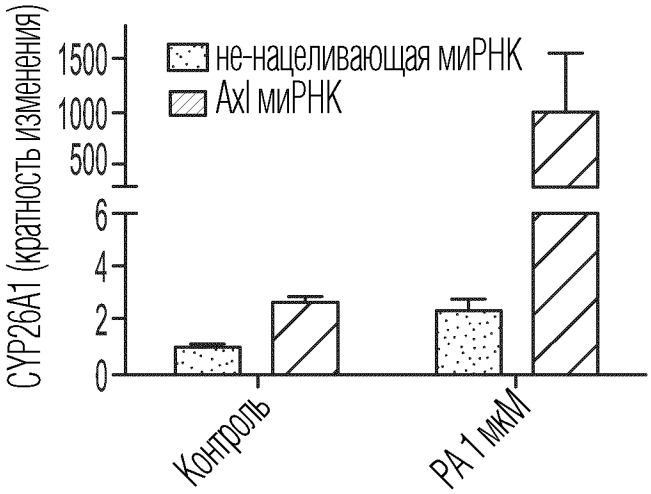
ФИГ. 19A



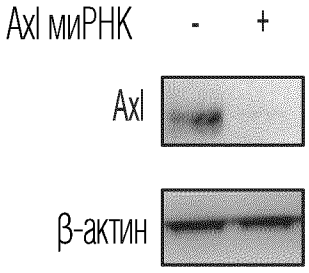
ФИГ. 19B



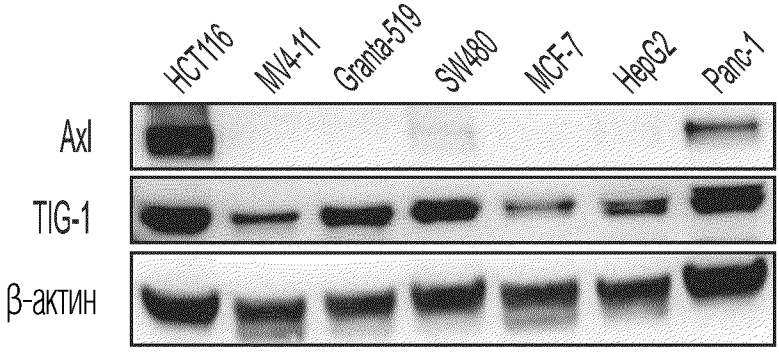
ФИГ. 20



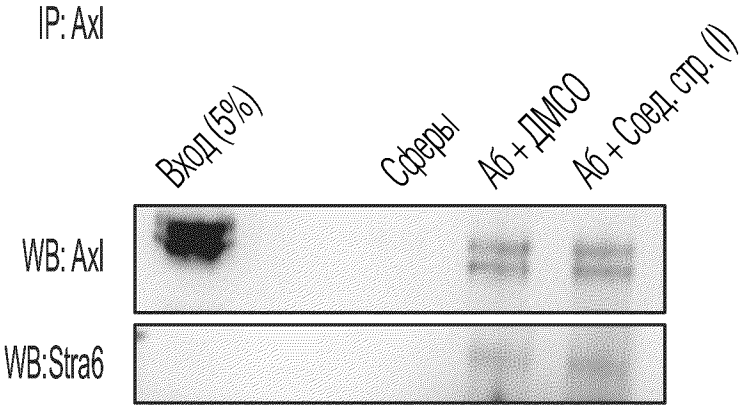
ФИГ. 21A



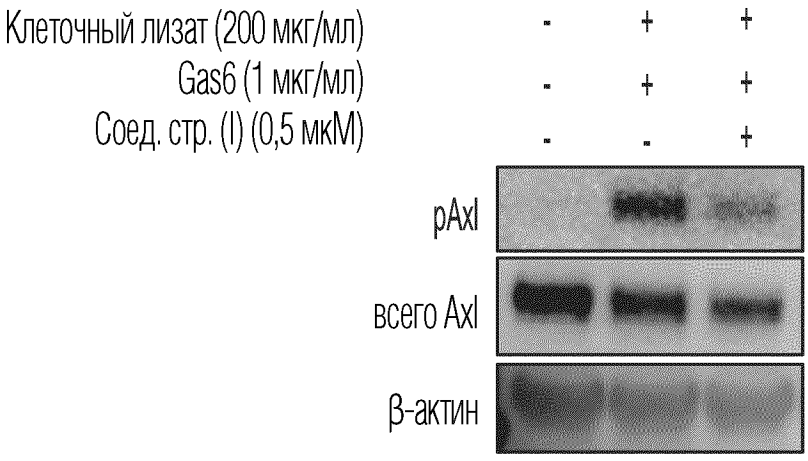
ФИГ. 21B



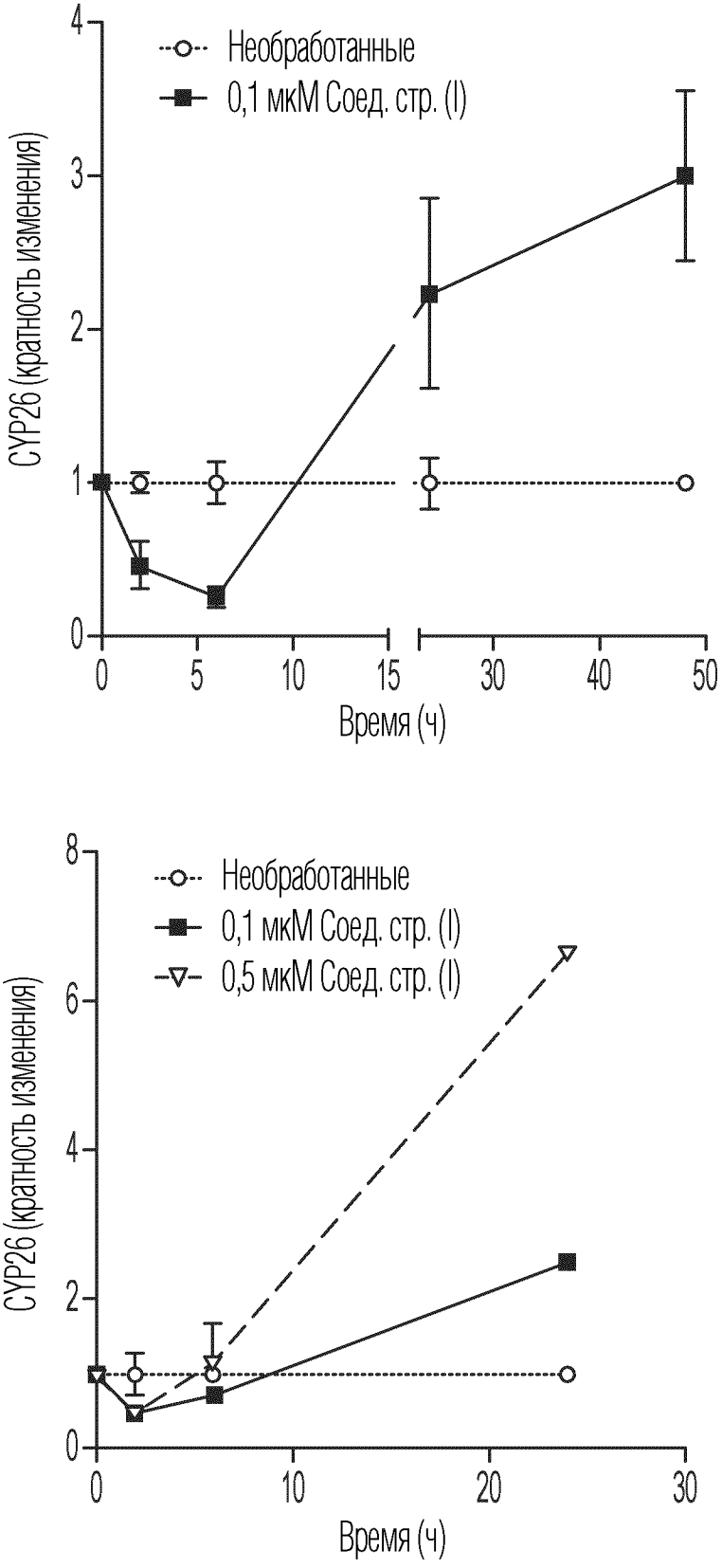
ФИГ. 22A



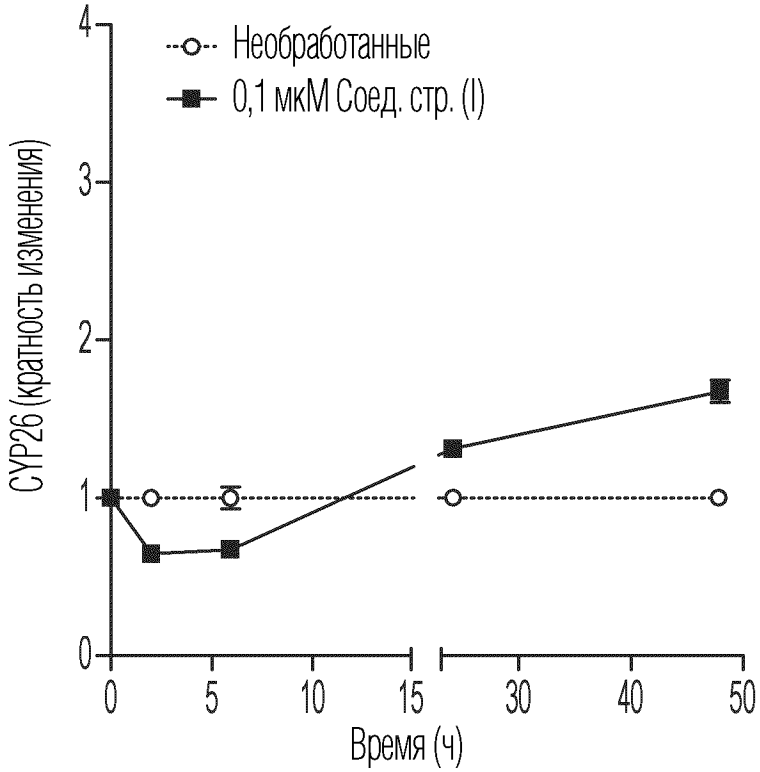
ФИГ. 22B



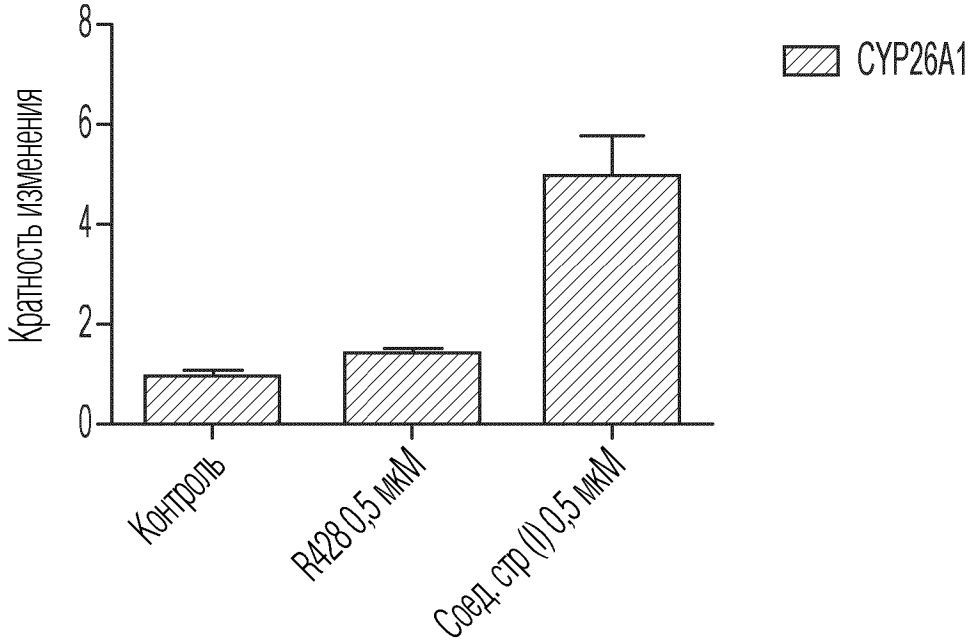
ФИГ. 23


Необработанные
0,1 мкМ Соед. стр. (I)
CYP26 (кратность изменения)
Время (ч)
0
1
2
3
4
0
5
10
15
30
40
50
Необработанные
0,1 мкМ Соед. стр. (I)
0,5 мкМ Соед. стр. (I)
CYP26 (кратность изменения)
Время (ч)
0
2
4
6
8
0
10
20
30

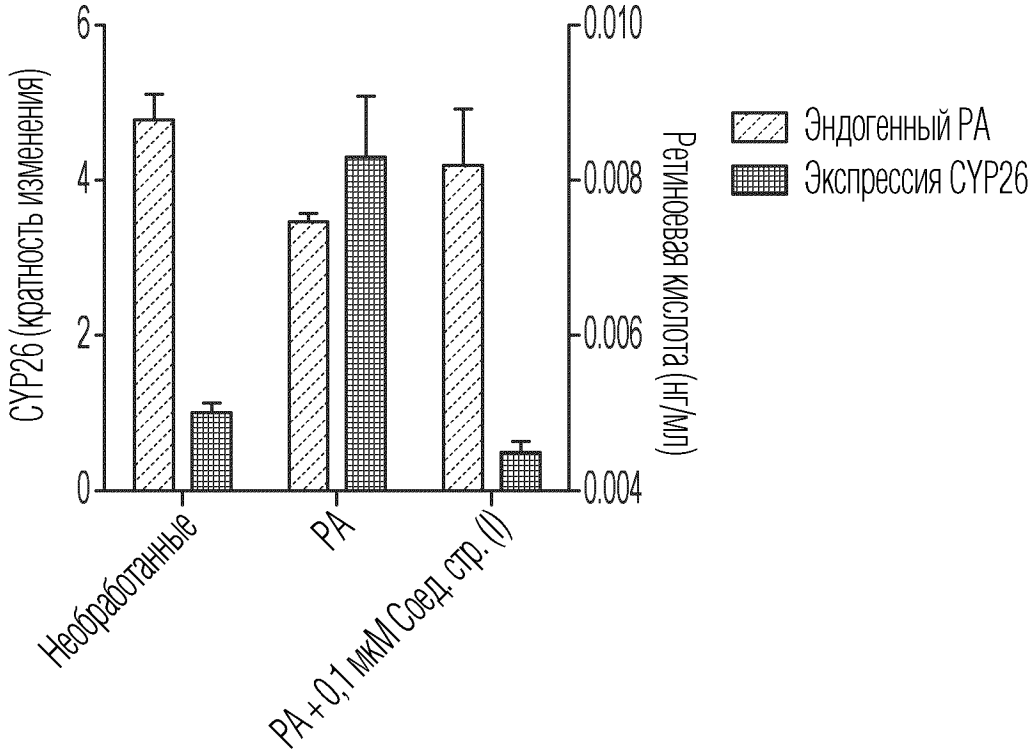
ФИГ. 24


Необработанные
0,1 мкМ Соед. стр. (I)
CYP26 (кратность изменения)
Время (ч)
0
1
2
3
4
0
5
10
15
30
40
50

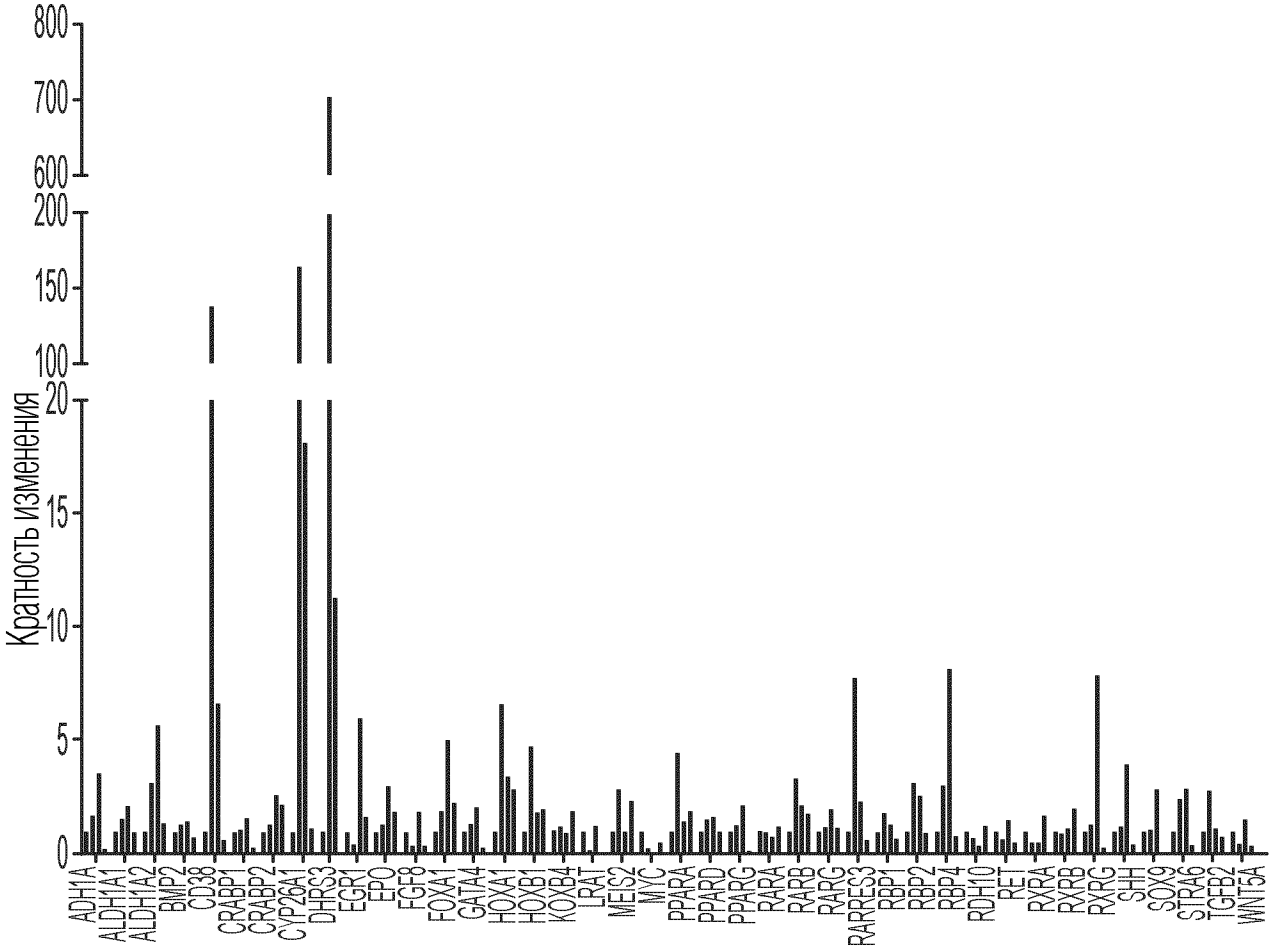
ФИГ. 25


CYP26A1
Кратность изменения
0
2
4
6
8
Контроль
R428 0,5 мкМ
Соед. стр (I) 0,5 мкМ

ФИГ. 26


CYP26 (кратность изменения)
Ретиноевая кислота (нг/мл)
Эндогенный RA
Экспрессия CYP26
Необработанные
RA
RA + 0,1 мкМ Соед. стр. (I)

ФИГ. 27

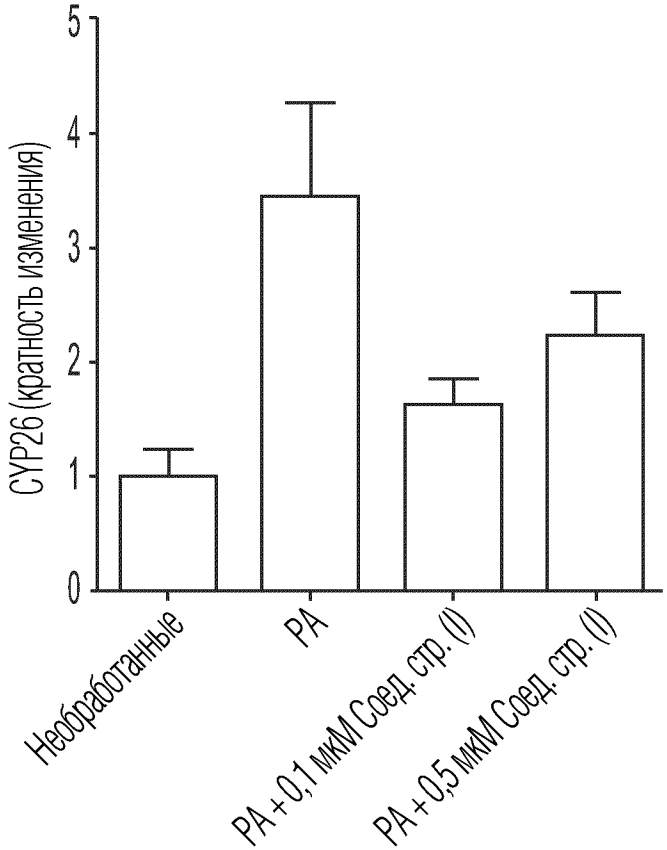

Кратность изменения
ADH1A
ALDH1A1
ALDH1A2
BMP2
CD38
CRABP1
CRABP2
CYP26A1
DHRS3
EGR1
EPO
FGF8
FOXA1
GATA4
HOXA1
HOXB1
KOXB4
LRAT
MEIS2
MYC
PPARA
PPARD
PPARG
RARA
RARB
RARG
RARRES3
RBP1
RBP2
RBP4
RDH10
RET
RXRA
RXRB
RXRG
SHH
SOX9
STRA6
TGFB2
WNT5A

ФИГ. 28

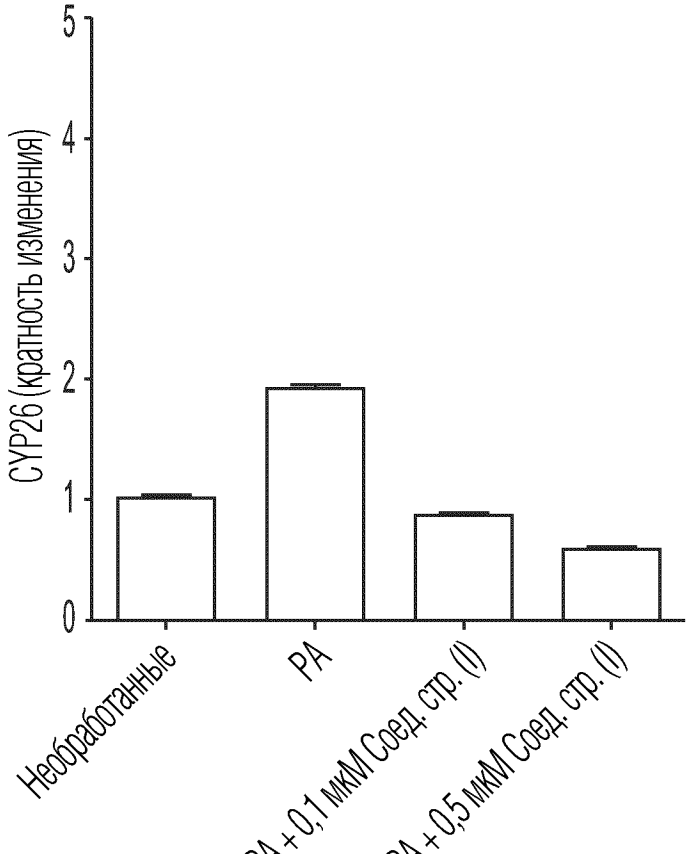
Таблица 1: Список выбранных генов из генов, отвечающих на PA и соединние структуры (I)

	Необработанные	PA	PA + соед. стр. (I)	Соед. стр. (I)
ADH1A	1.0	1.7	3.5	0.2
APOA2	1.0	1.1	3.2	2.3
ALDH1A2	1.0	3.1	5.7	1.4
CD38	1.0	139.0	6.6	0.6
CYP26A1	1.0	166.2	18.1	1.1
CYP26B1	1.0	13.5	2.4	0.4
DHRS3	1.0	702.7	11.2	
DLX5	1.0	18.4	4.2	1.8
EGR1	1.0	0.4	6.0	1.6
FOXA1	1.0	1.9	5.0	2.3
HNP1B	1.0	0.5	2.8	0.1
HSD17B2	1.0	1.3	5.6	0.4
ISL1	1.0	1.2	4.0	0.0
LHX1	1.0	0.6	3.1	0.6
PPARG	1.0	1.3	2.2	0.2
RARA	1.0	1.0	0.8	1.2
RBP4	1.0	3.0	8.1	0.8
RXRG	1.0	1.3	7.8	0.3
SHH	1.0	1.2	3.9	0.4
STRA6	1.0	2.4	2.8	0.4
TGM2	1.0	341.8	9.7	1.5
UCPI	1.0	1.6	4.5	2.2

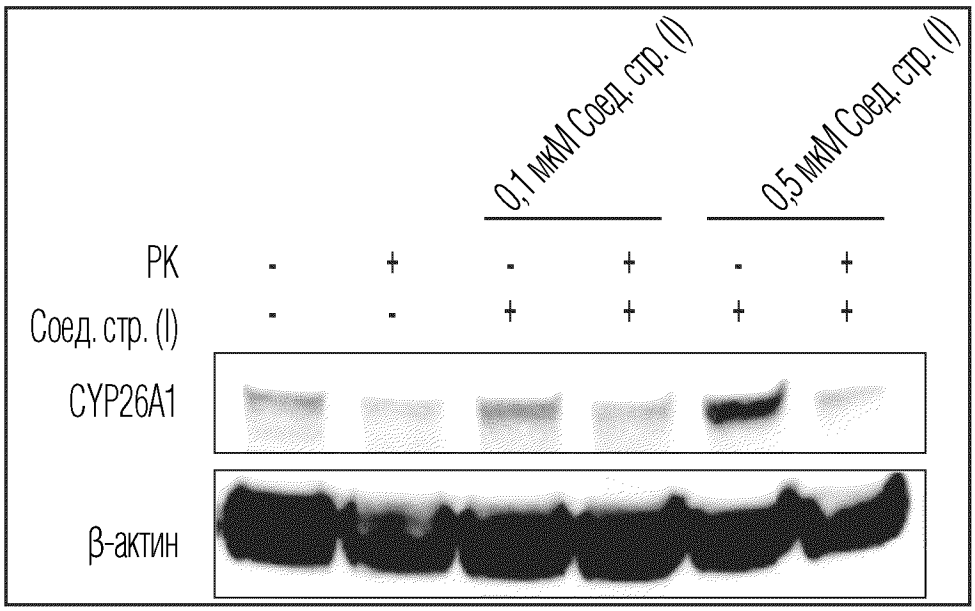
ФИГ. 29



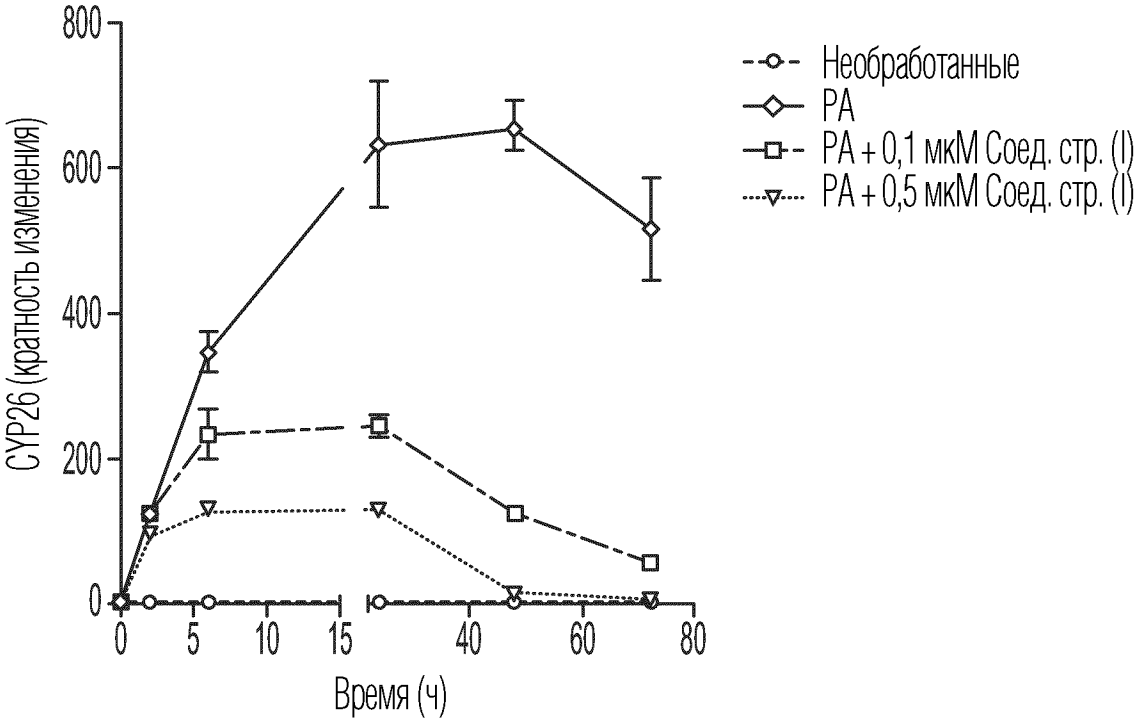
ФИГ. 30A



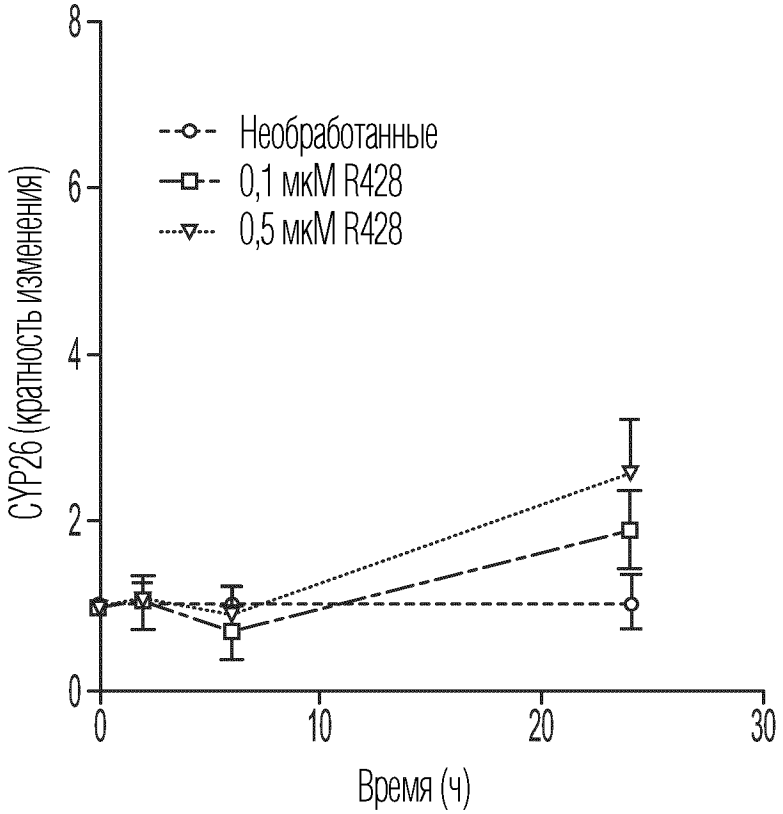
ФИГ. 30B


0,1 мкМ Соед. стр. (I)
0,5 мкМ Соед. стр. (I)
РК
Соед. стр. (I)
CYP26A1
β-актин

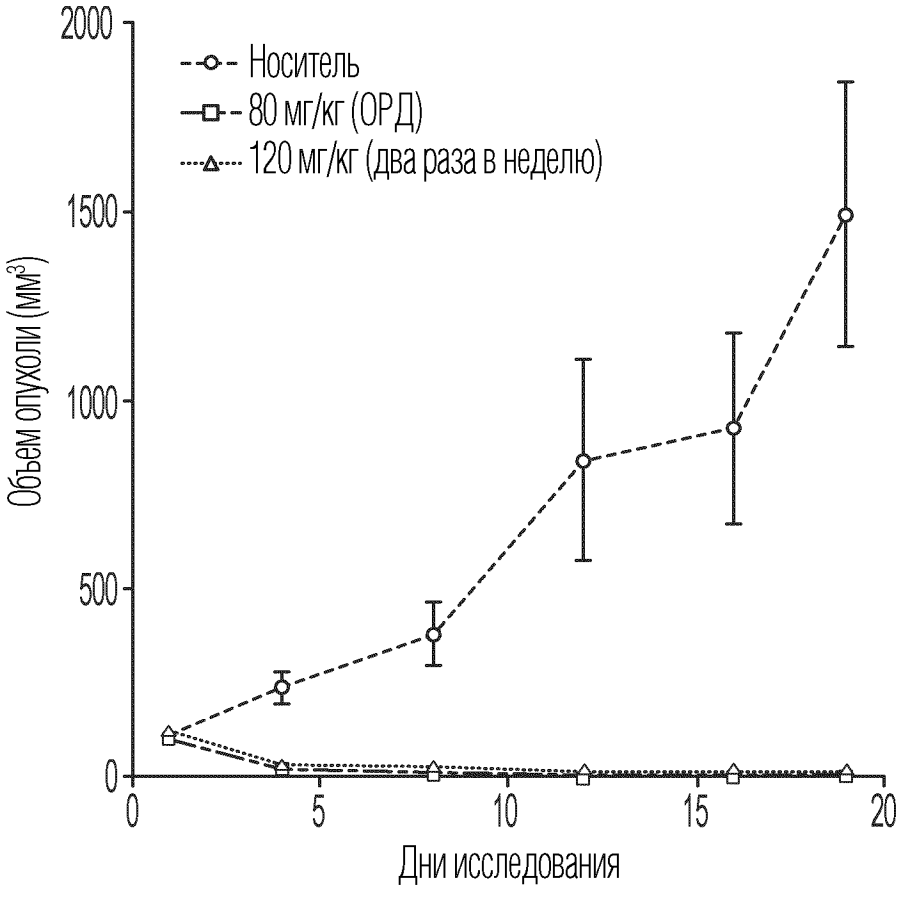
ФИГ. 31


CYP26 (кратность изменения)
Время (ч)
Необработанные
РА
РА + 0,1 мкМ Соед. стр. (I)
РА + 0,5 мкМ Соед. стр. (I)

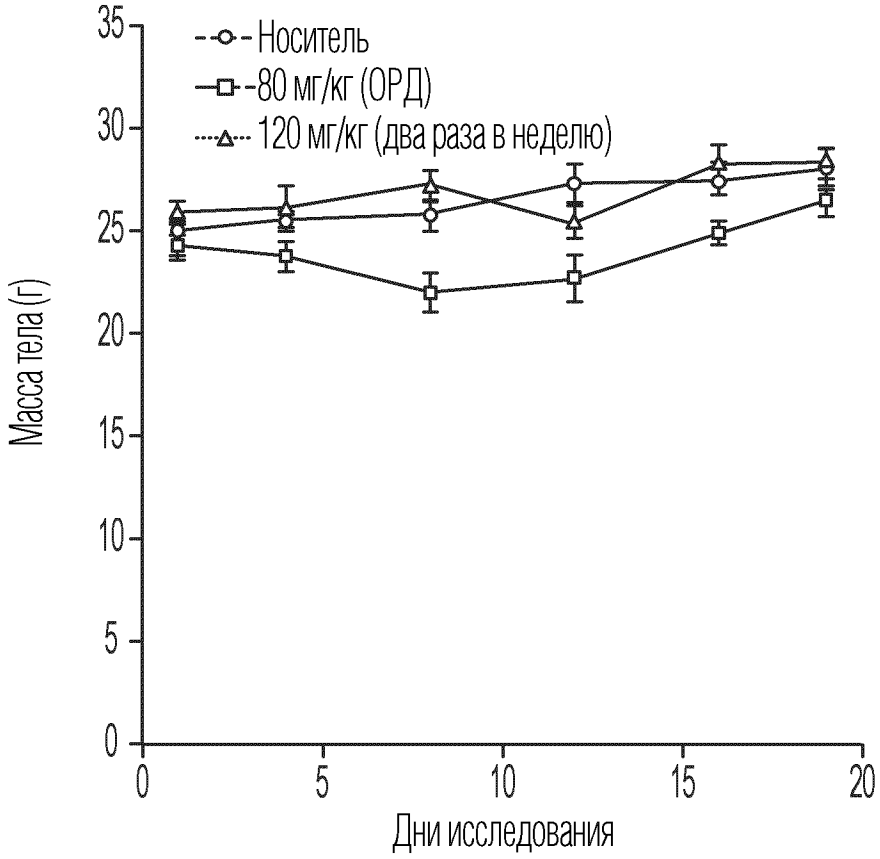
ФИГ. 32



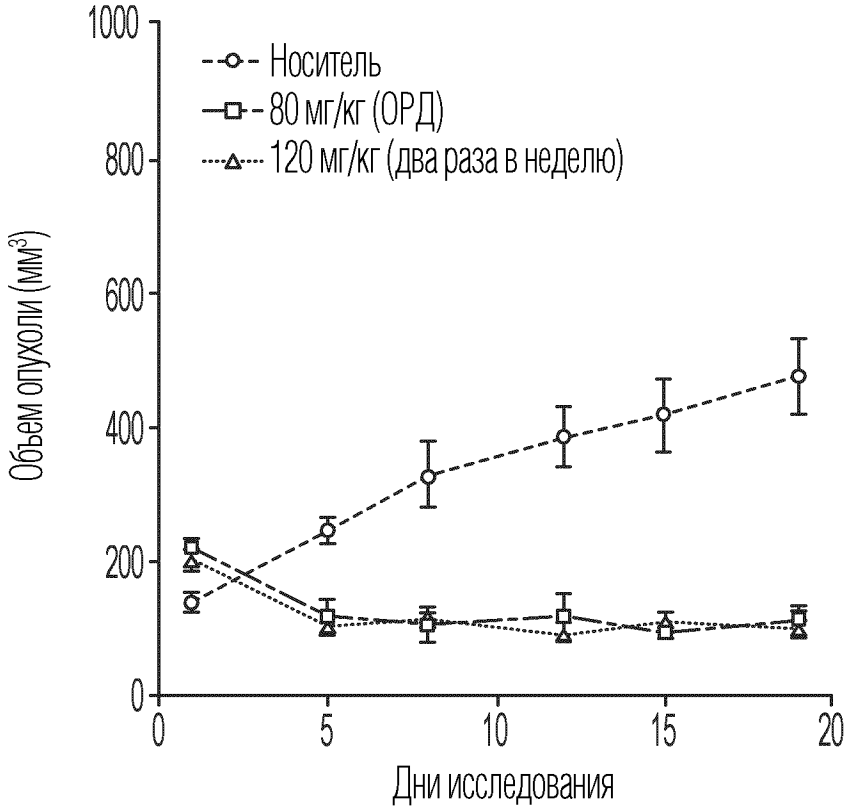
ФИГ. 33



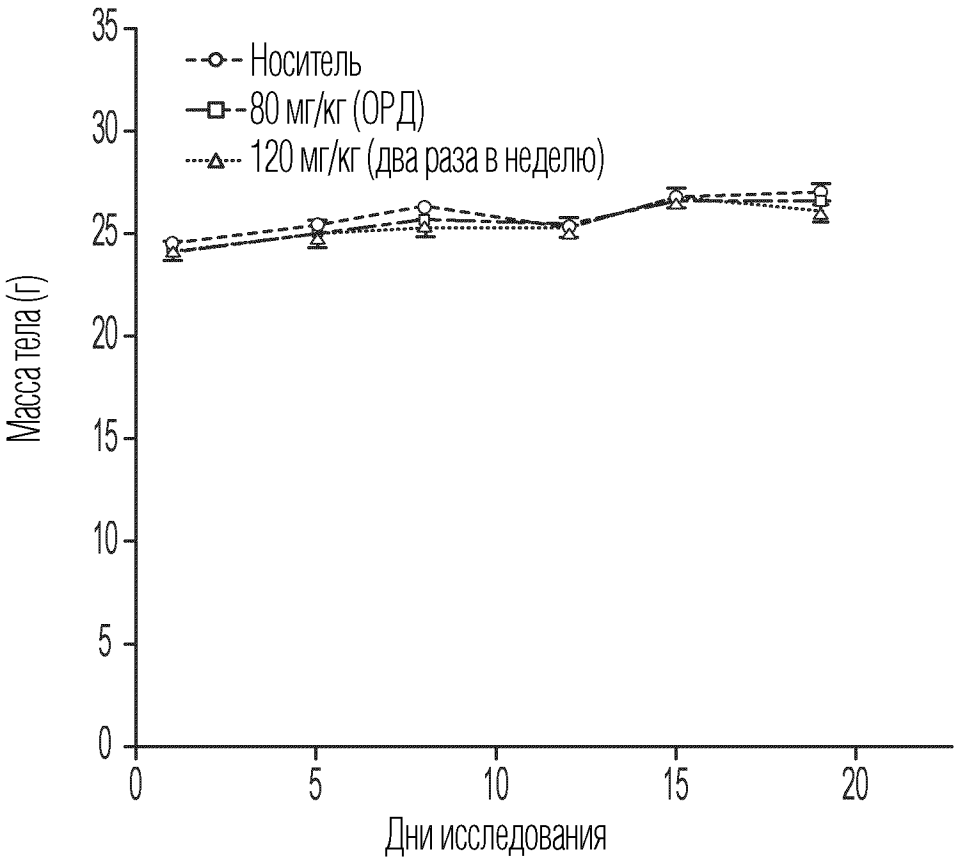
ФИГ. 34А



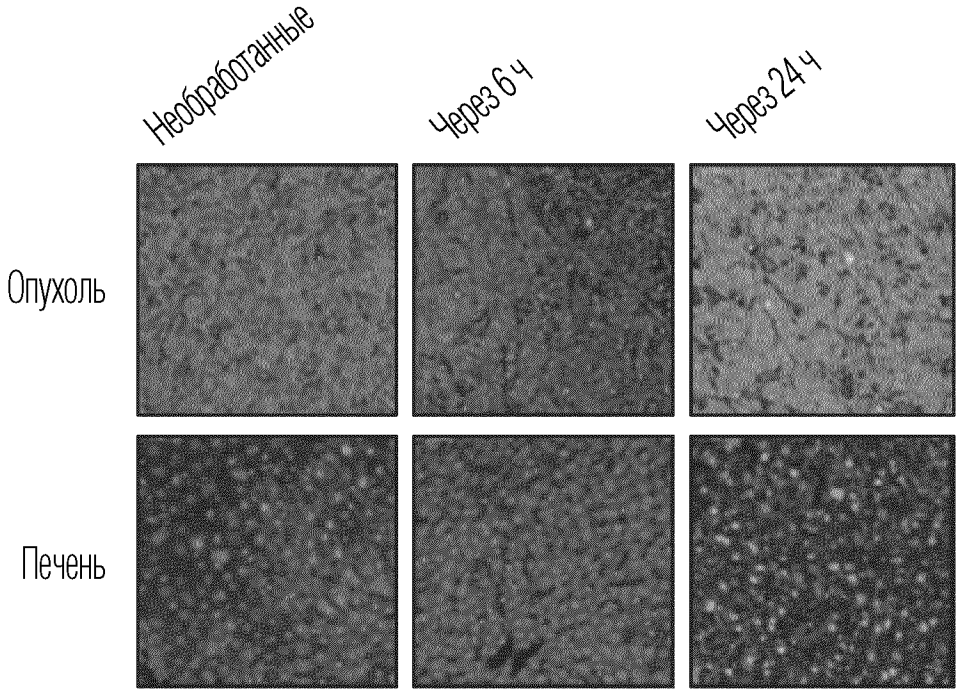
ФИГ. 34B



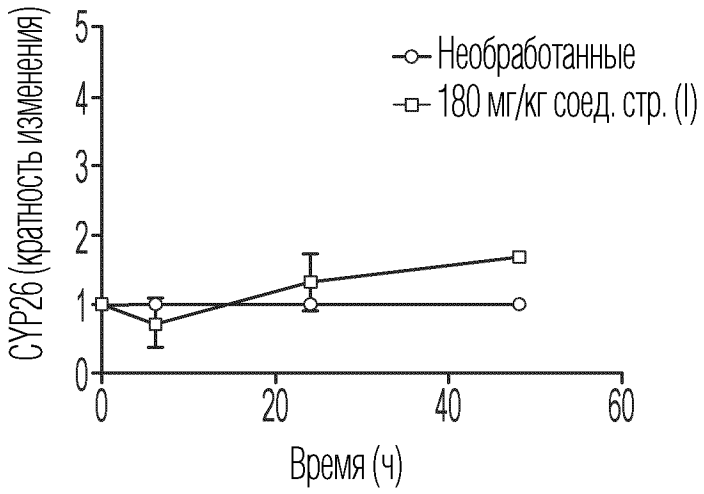
ФИГ. 34C


Носитель
80 мг/кг (ОРД)
120 мг/кг (два раза в неделю)
Масса тела (г)
35
30
25
20
15
10
5
0
0
5
10
15
20
Дни исследования

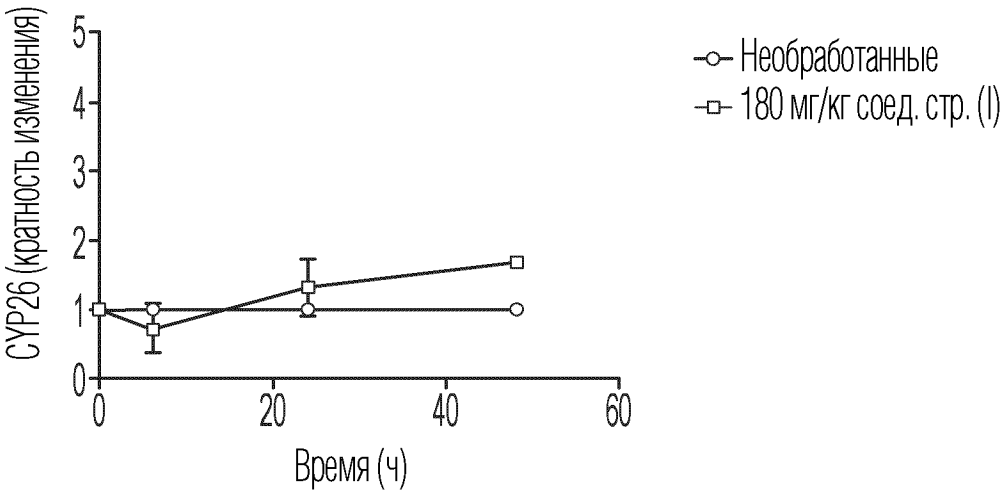
ФИГ. 34D


Необработанные
Через 6 ч
Через 24 ч
Опухоль
Печень

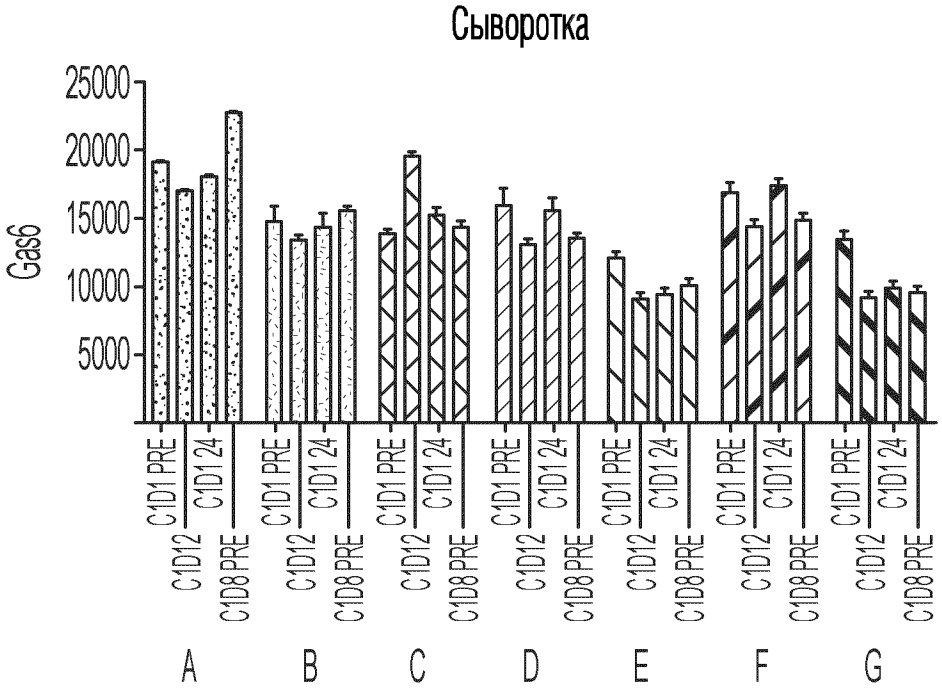
ФИГ. 35


CYP26 (кратность изменения)
0
1
2
3
4
5
0
20
40
60
Время (ч)
Необработанные
180 мг/кг соед. стр. (I)

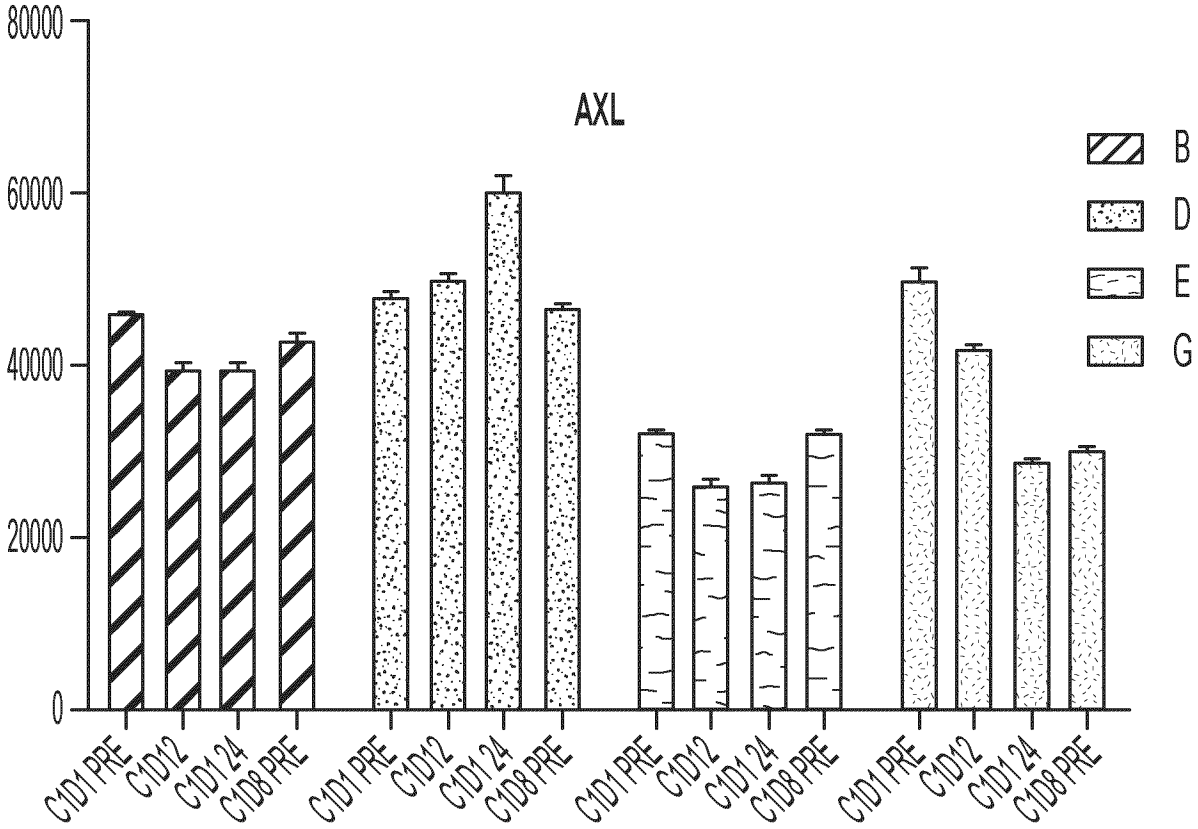
ФИГ. 36


CYP26 (кратность изменения)
5
4
3
2
1
0
0
20
40
60
Время (ч)
Необработанные
180 мг/кг соед. стр. (I)

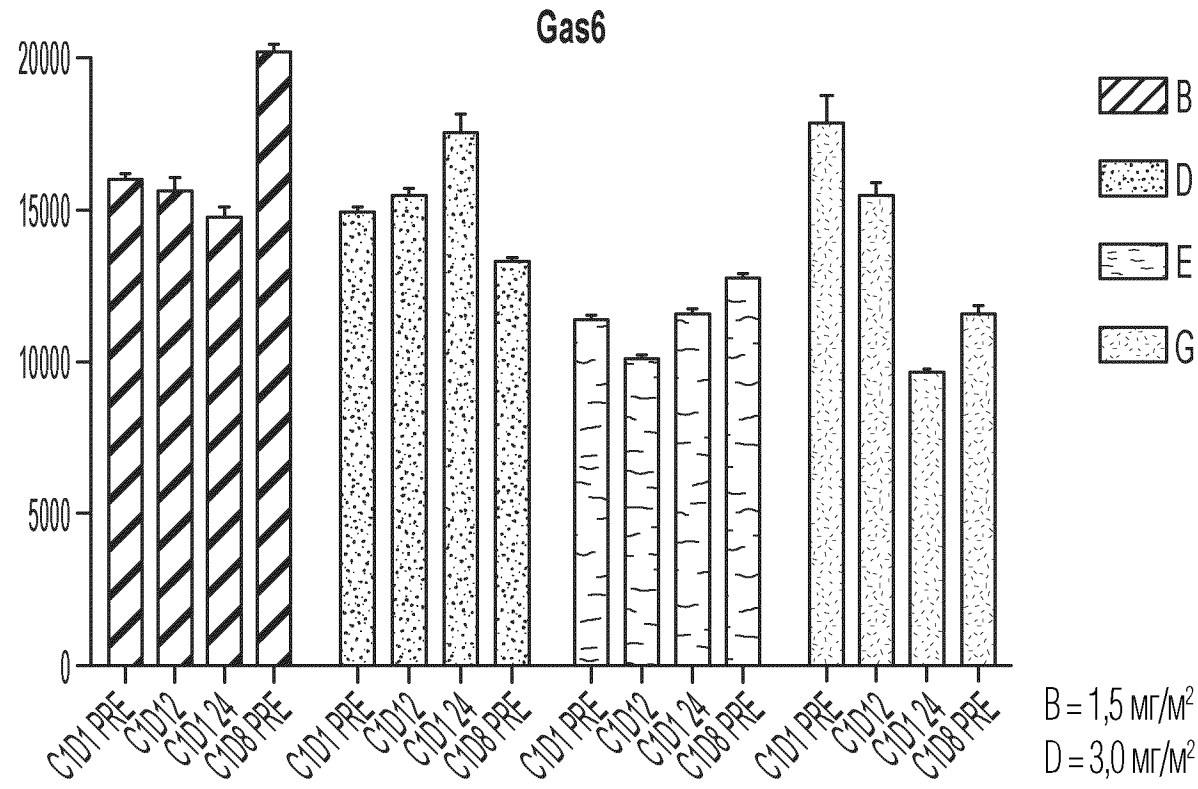
ФИГ. 37


Сыворотка
Gas6
25000
20000
15000
10000
5000
C1D1 PRE
C1D12
C1D1 24
C1D8 PRE
A
B
C
D
E
F
G

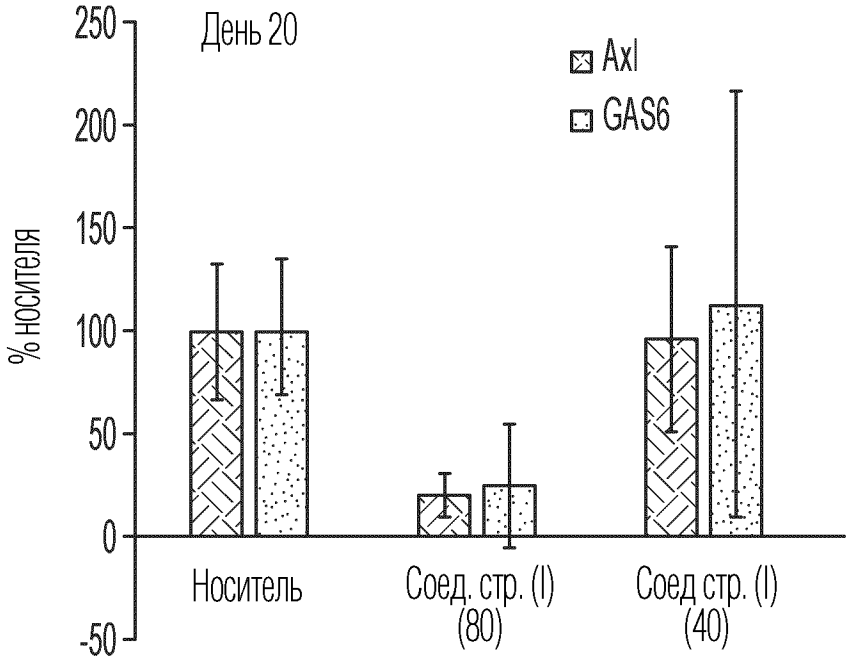
ФИГ. 38


AXL
80000
60000
40000
20000
0
B
D
E
G
C1D1 PRE
C1D12
C1D1 24
C1D8 PRE

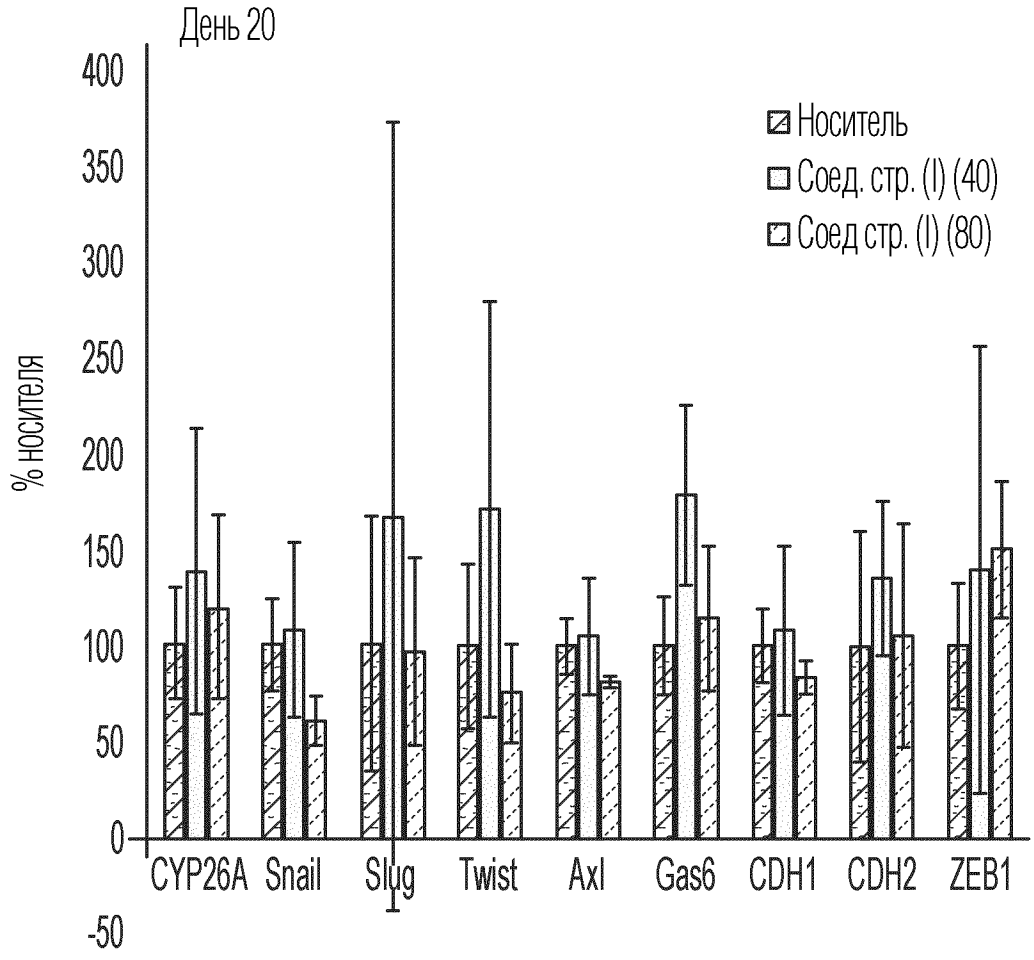
ФИГ. 39


Gas6
20000
15000
10000
5000
0
B
D
E
G
C1D1 PRE
C1D12
C1D1 24
C1D8 PRE
B = 1,5 мг/м²
D = 3,0 мг/м²
E = 3,0 мг/м²
G = 6,0 мг/м²

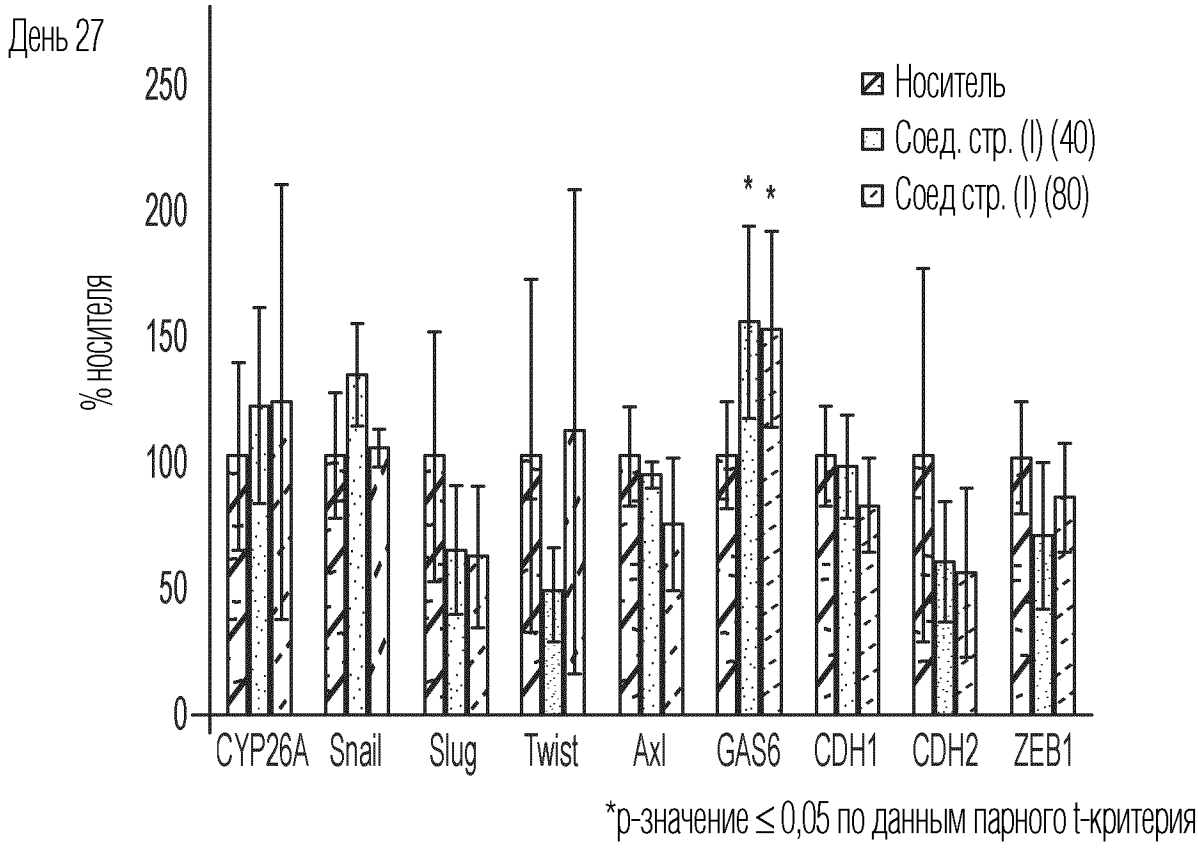
ФИГ. 40


День 20
Axl
GAS6
% носителя
250
200
150
100
50
0
-50
Носитель
Соед. стр. (I) (80)
Соед стр. (I) (40)

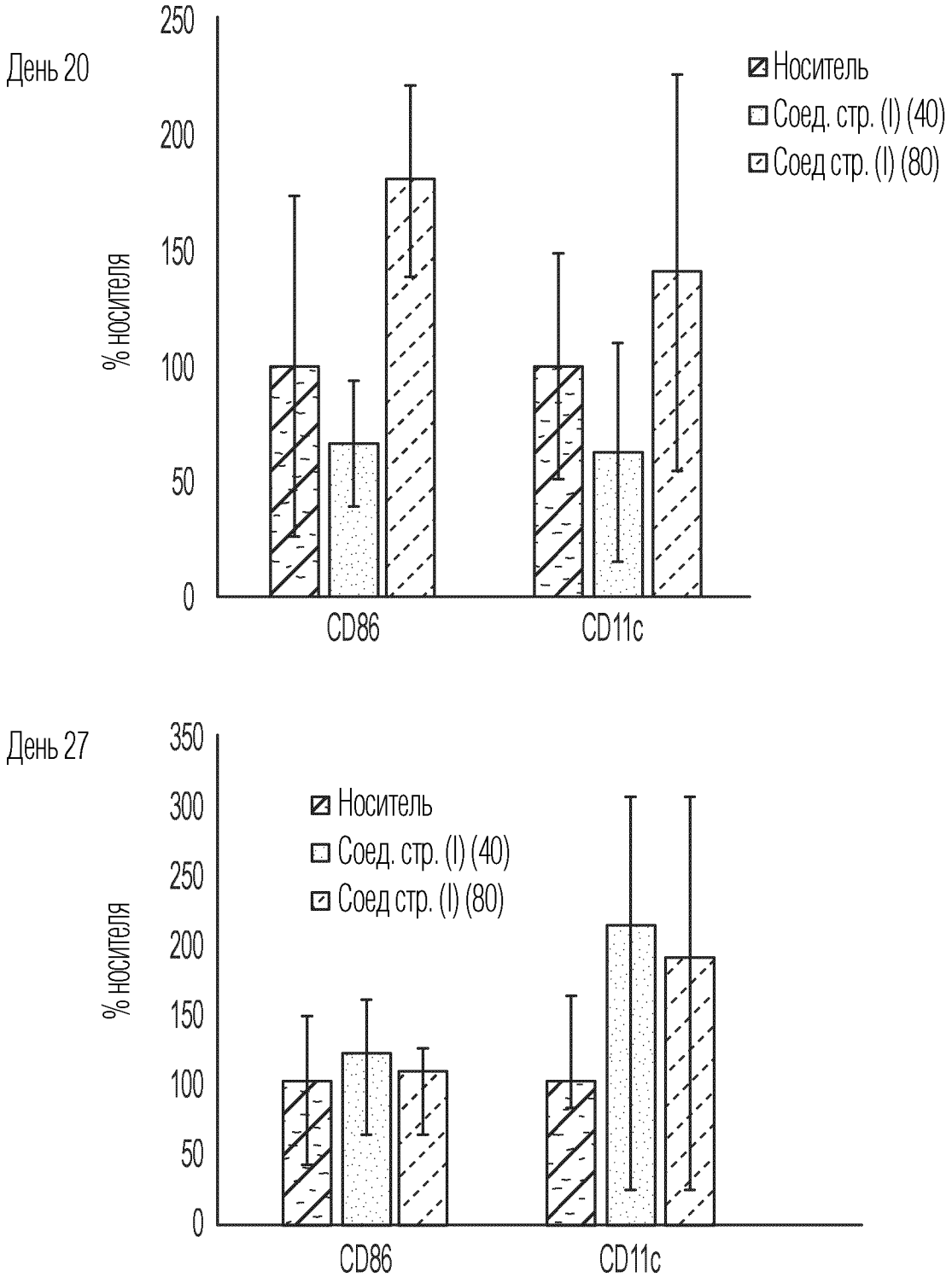
ФИГ. 41


День 20
Носитель
Соед. стр. (I) (40)
Соед стр. (I) (80)
% носителя
400
350
300
250
200
150
100
50
0
-50
CYP26A
Snail
Slug
Twist
Axl
Gas6
CDH1
CDH2
ZEB1

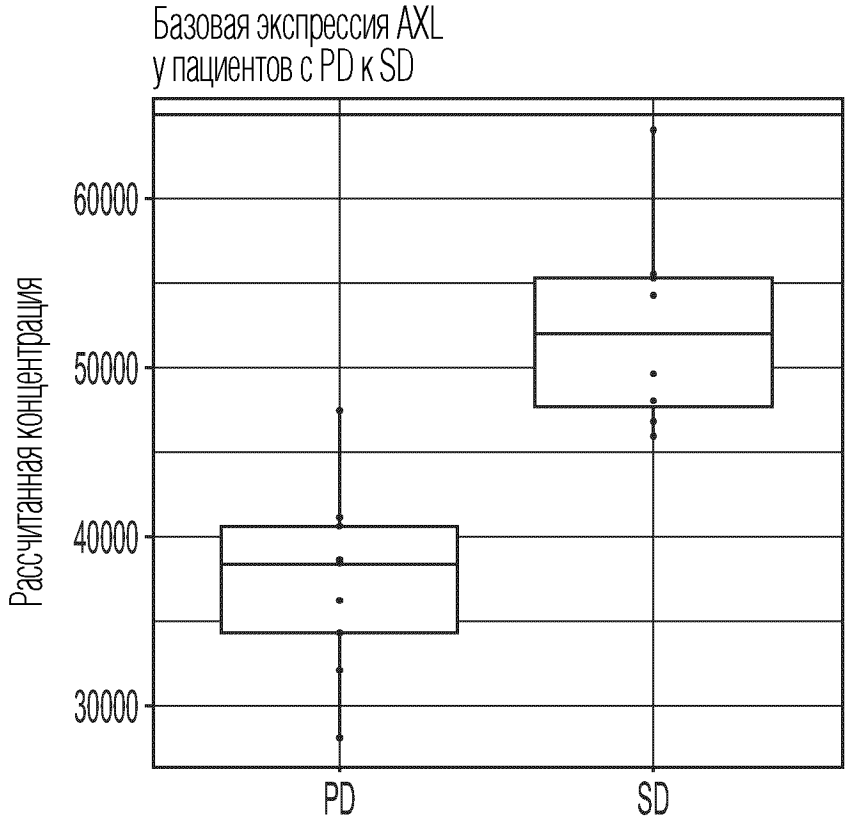
ФИГ. 42


День 27
250
200
150
100
50
0
% носителя
Носитель
Соед. стр. (I) (40)
Соед стр. (I) (80)
* *
CYP26A
Snail
Slug
Twist
Axl
GAS6
CDH1
CDH2
ZEB1
*p-значение ≤ 0,05 по данным парного t-критерия

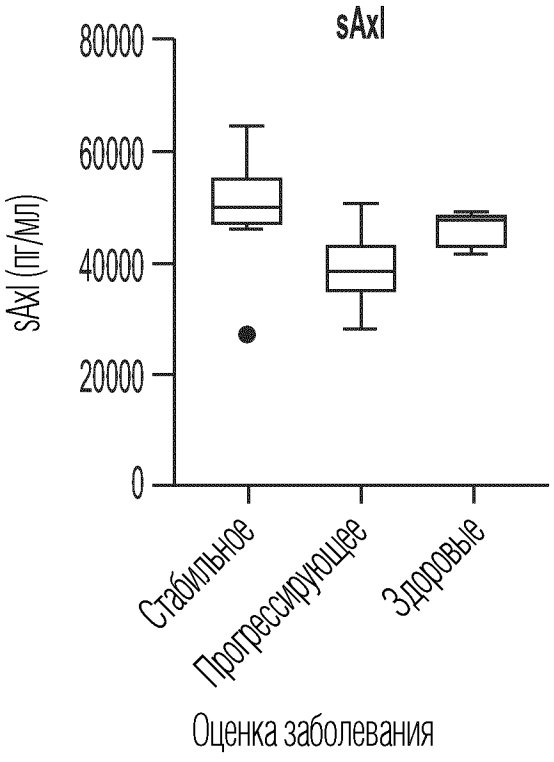
ФИГ. 43


День 20
250
200
150
100
50
0
% носителя
Носитель
Соед. стр. (I) (40)
Соед стр. (I) (80)
CD86
CD11c
День 27
350
300
250
200
150
100
50
0
% носителя
Носитель
Соед. стр. (I) (40)
Соед стр. (I) (80)
CD86
CD11c

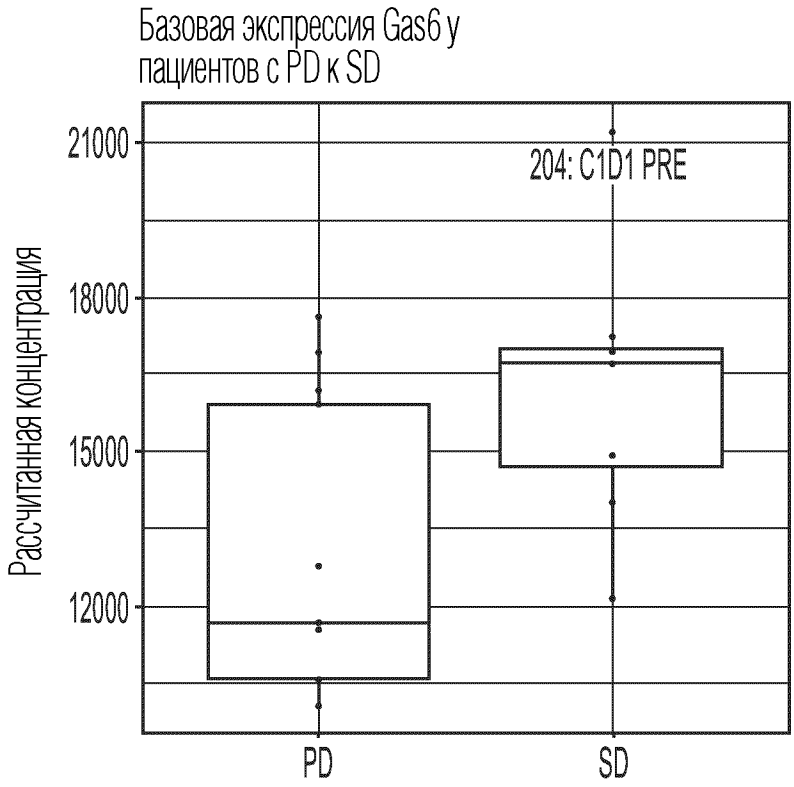
ФИГ. 44



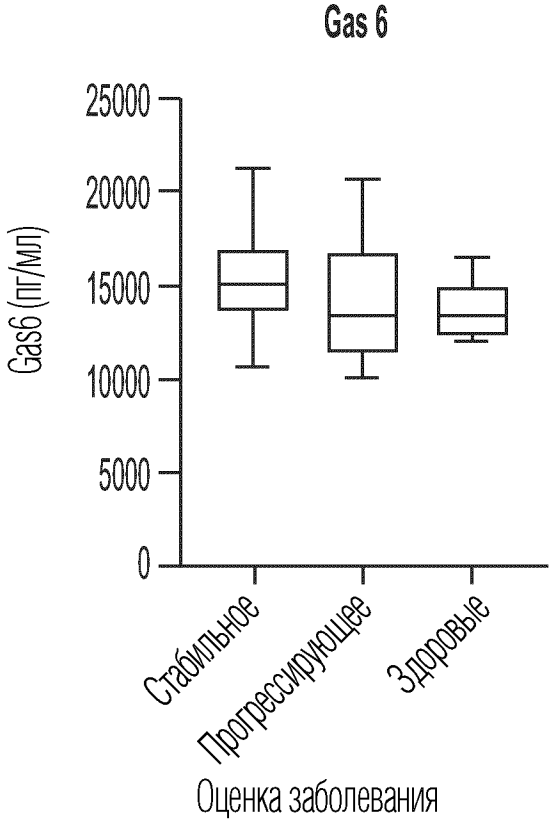
ФИГ. 45A



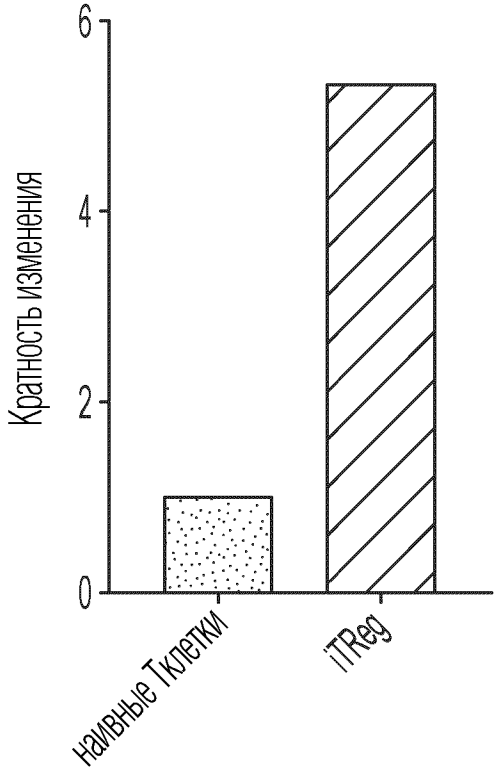
ФИГ. 45B



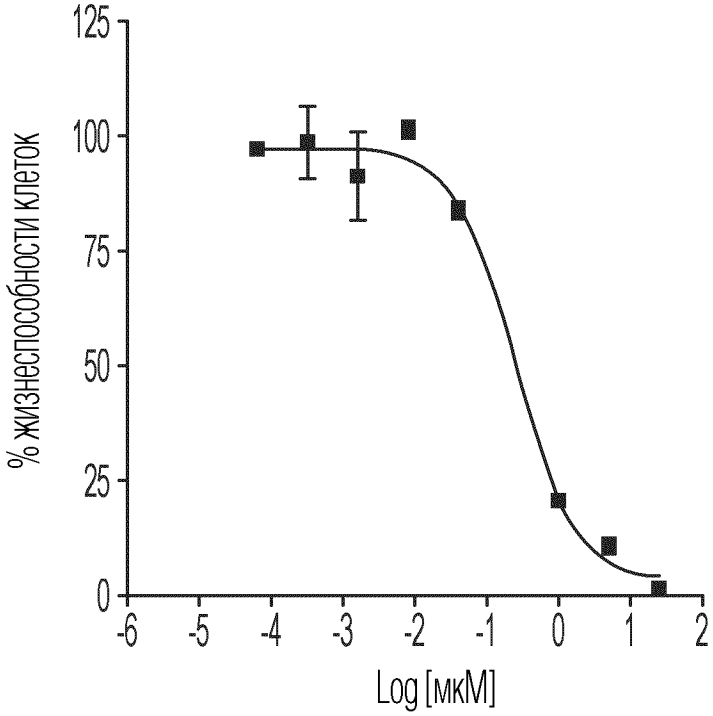
ФИГ. 46A



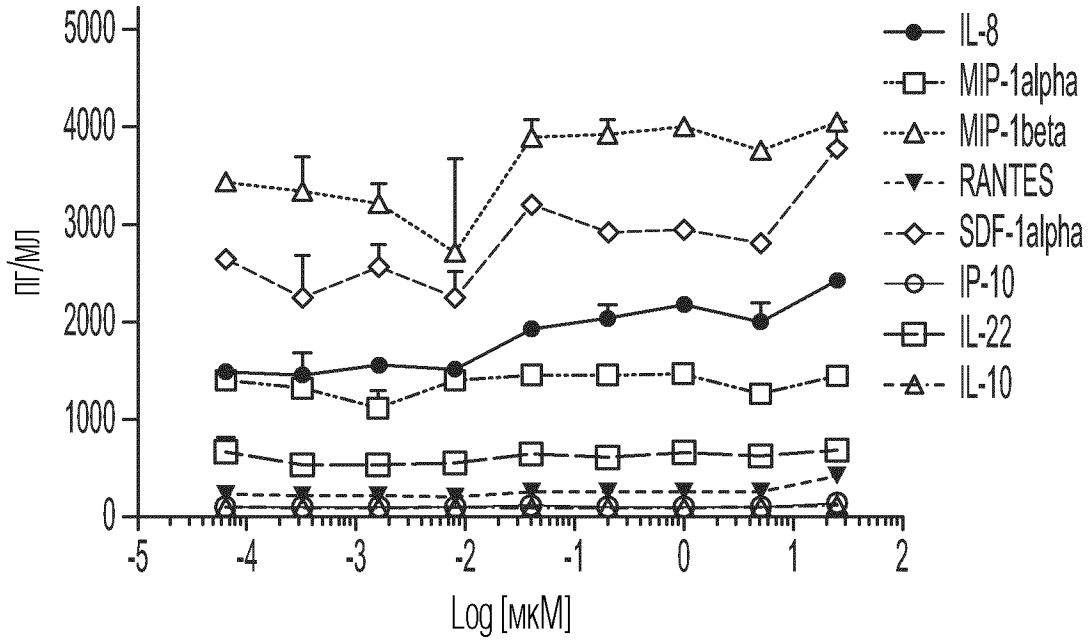
ФИГ. 46B



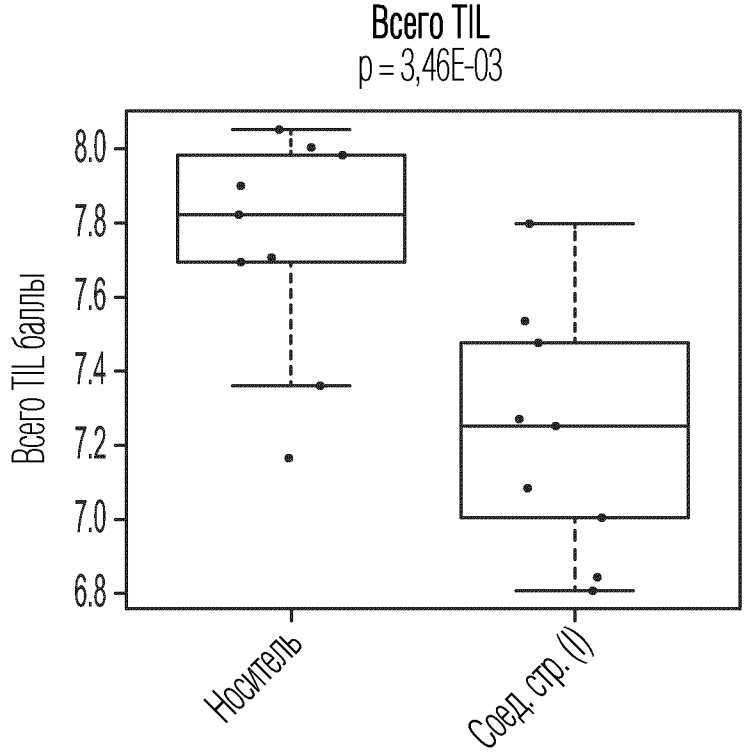
ФИГ. 47A



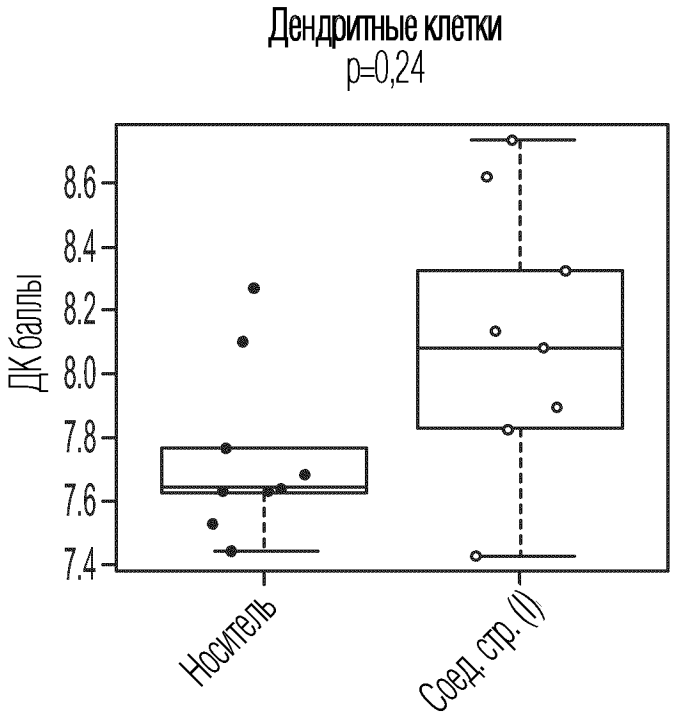
ФИГ. 47B



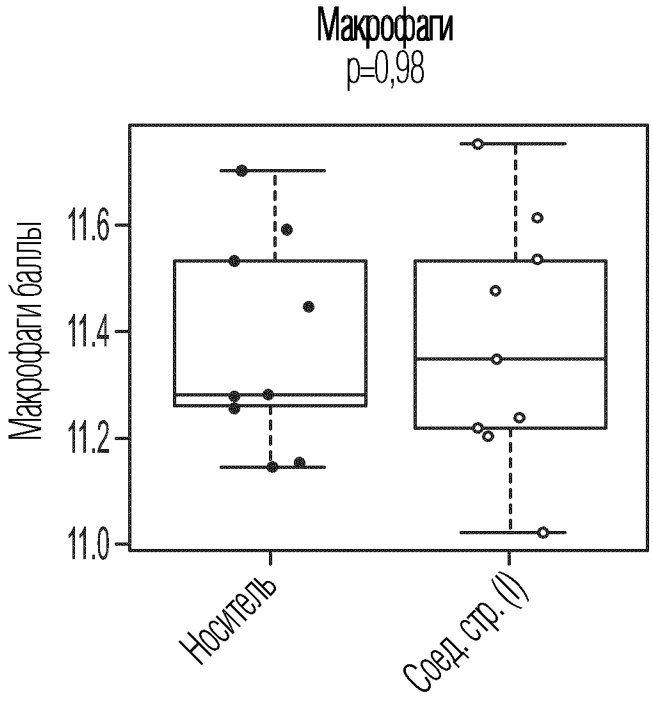
ФИГ. 47C



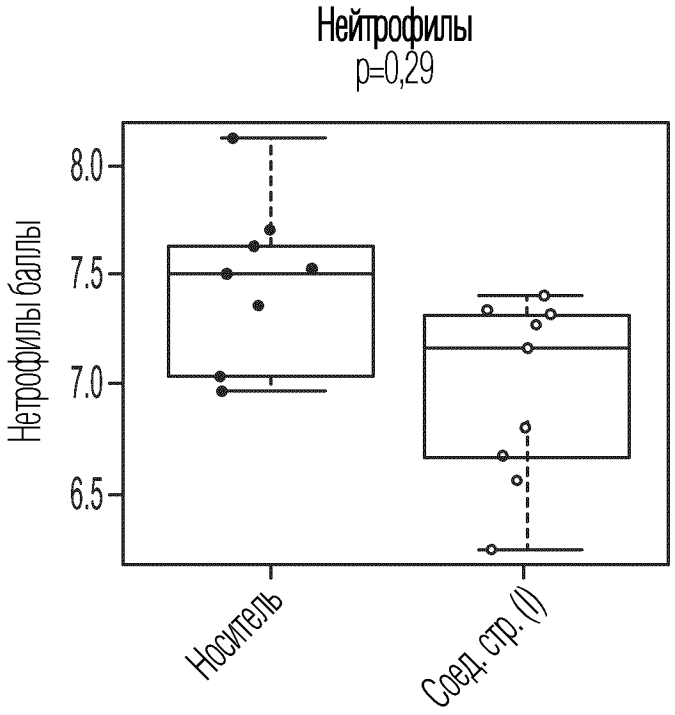
ФИГ. 48


Дендритные клетки
p=0,24
ДК баллы
8.6
8.4
8.2
8.0
7.8
7.6
7.4
Носитель
Соед. стр. (I)

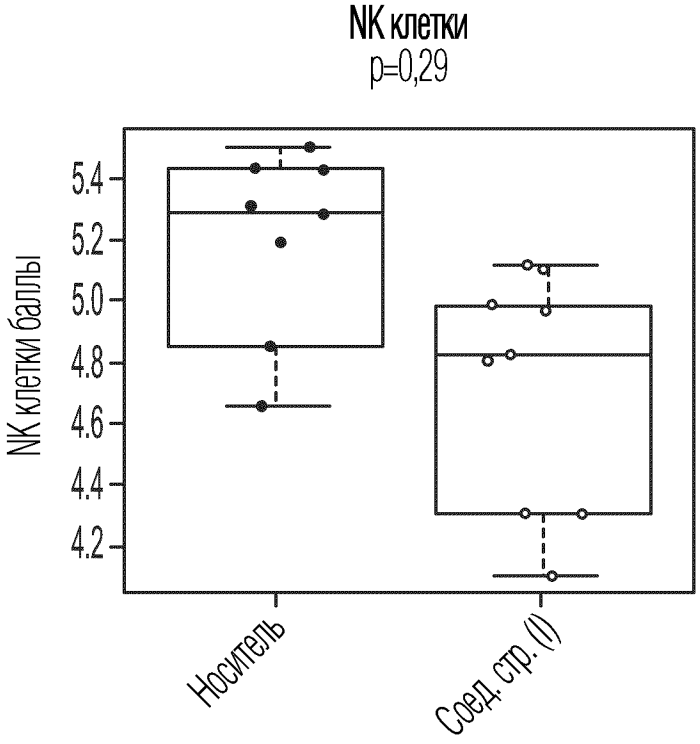
ФИГ. 49


Макрофаги
p=0,98
Макрофаги баллы
11.6
11.4
11.2
11.0
Носитель
Соед. стр. (I)

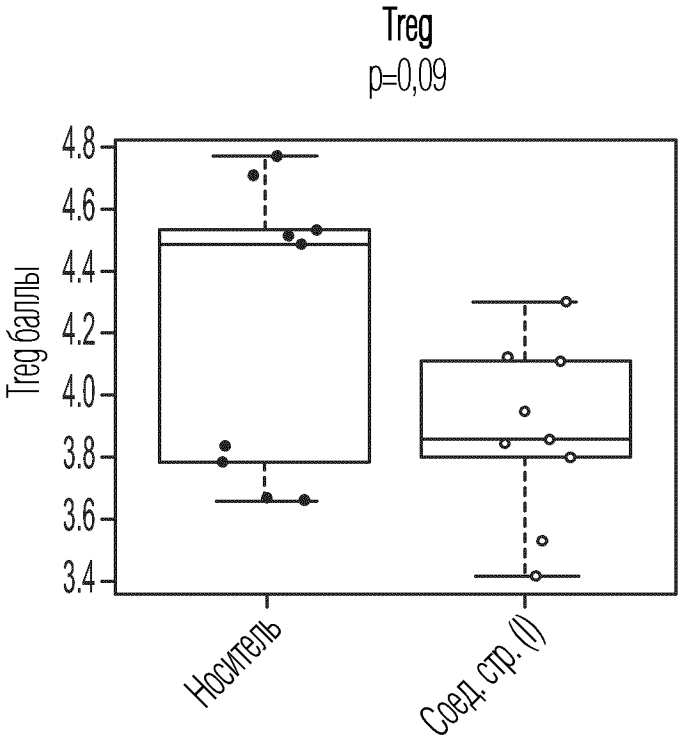
ФИГ. 50


Нейтрофилы
p=0,29
Нетрофилы баллы
8.0
7.5
7.0
6.5
Носитель
Соед. стр. (I)

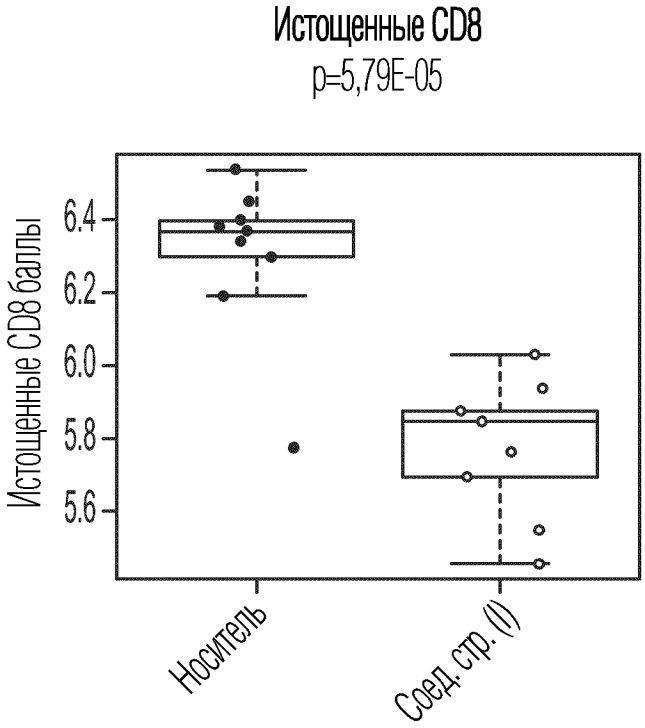
ФИГ. 51


NK клетки
p=0,29
NK клетки баллы
5.4
5.2
5.0
4.8
4.6
4.4
4.2
Носитель
Соед. стр. (I)

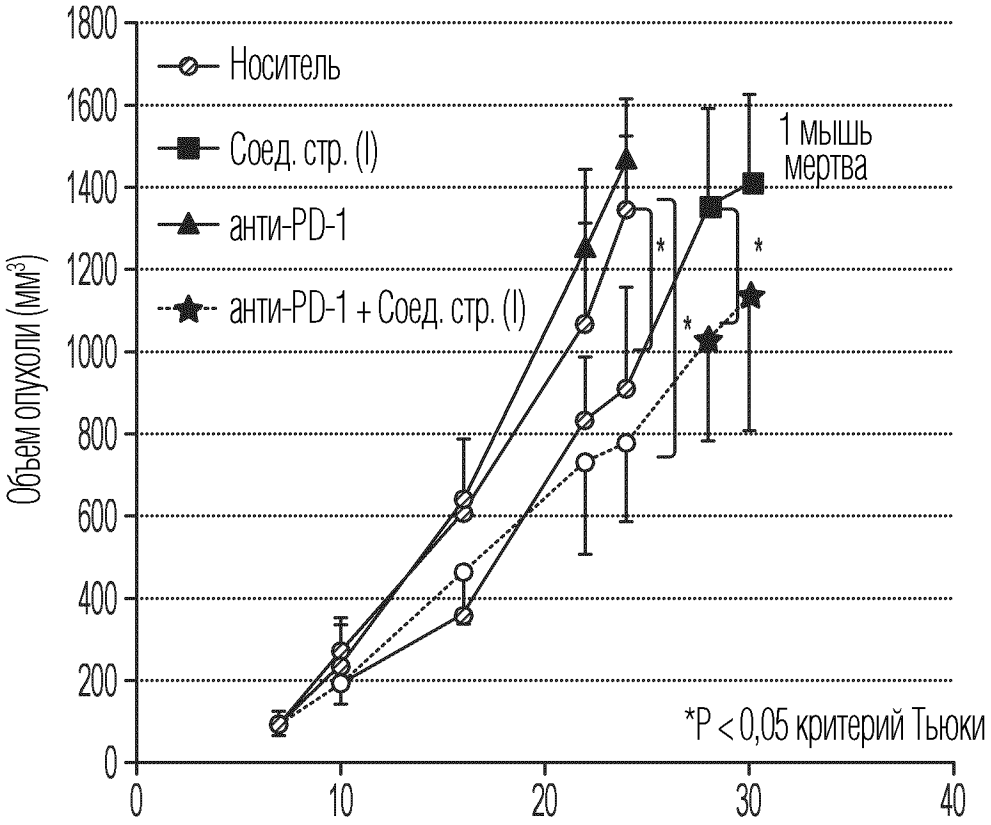
ФИГ. 52


Treg
p=0,09
Treg баллы
4.8
4.6
4.4
4.2
4.0
3.8
3.6
3.4
Носитель
Соед. стр. (I)

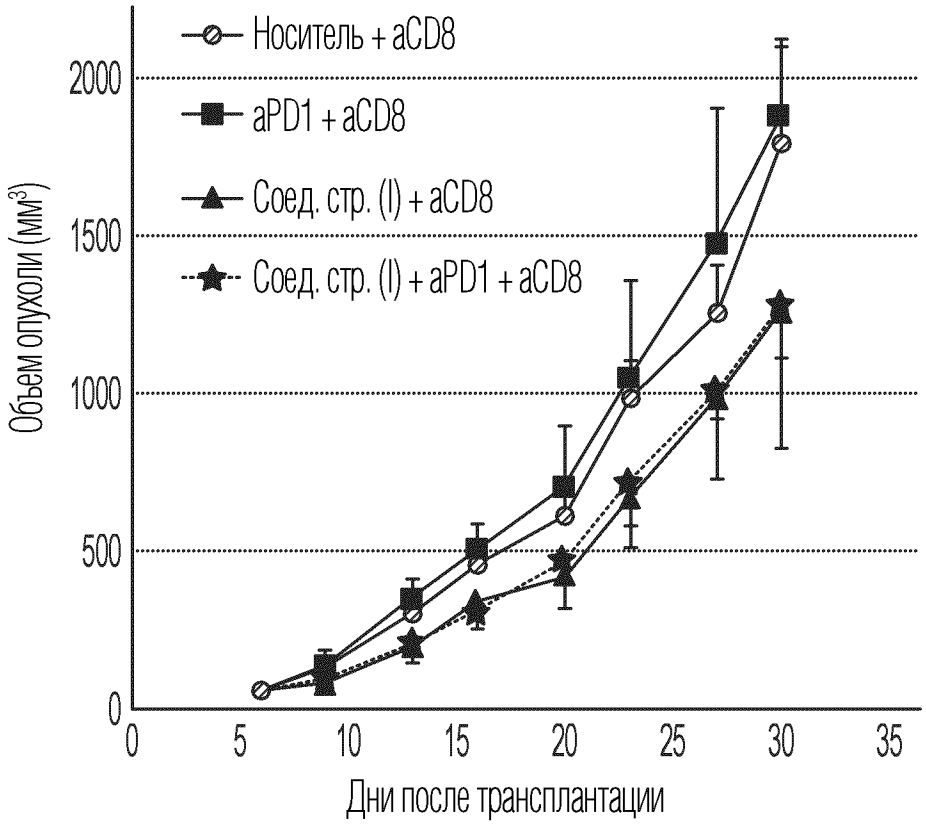
ФИГ. 53


Истощенные CD8
p=5,79E-05
Истощенные CD8 баллы
6.4
6.2
6.0
5.8
5.6
Носитель
Соед. стр. (I)

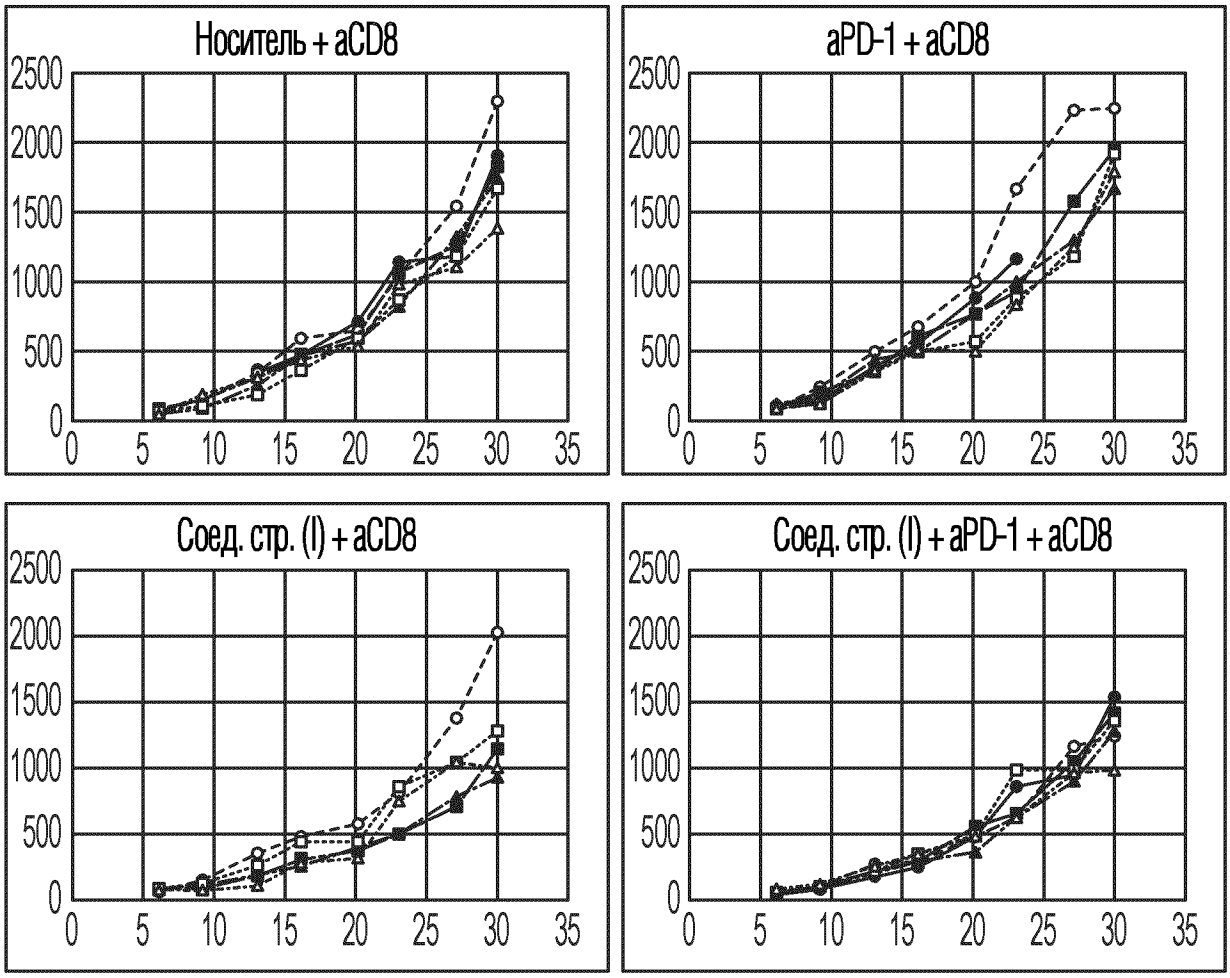
ФИГ. 54



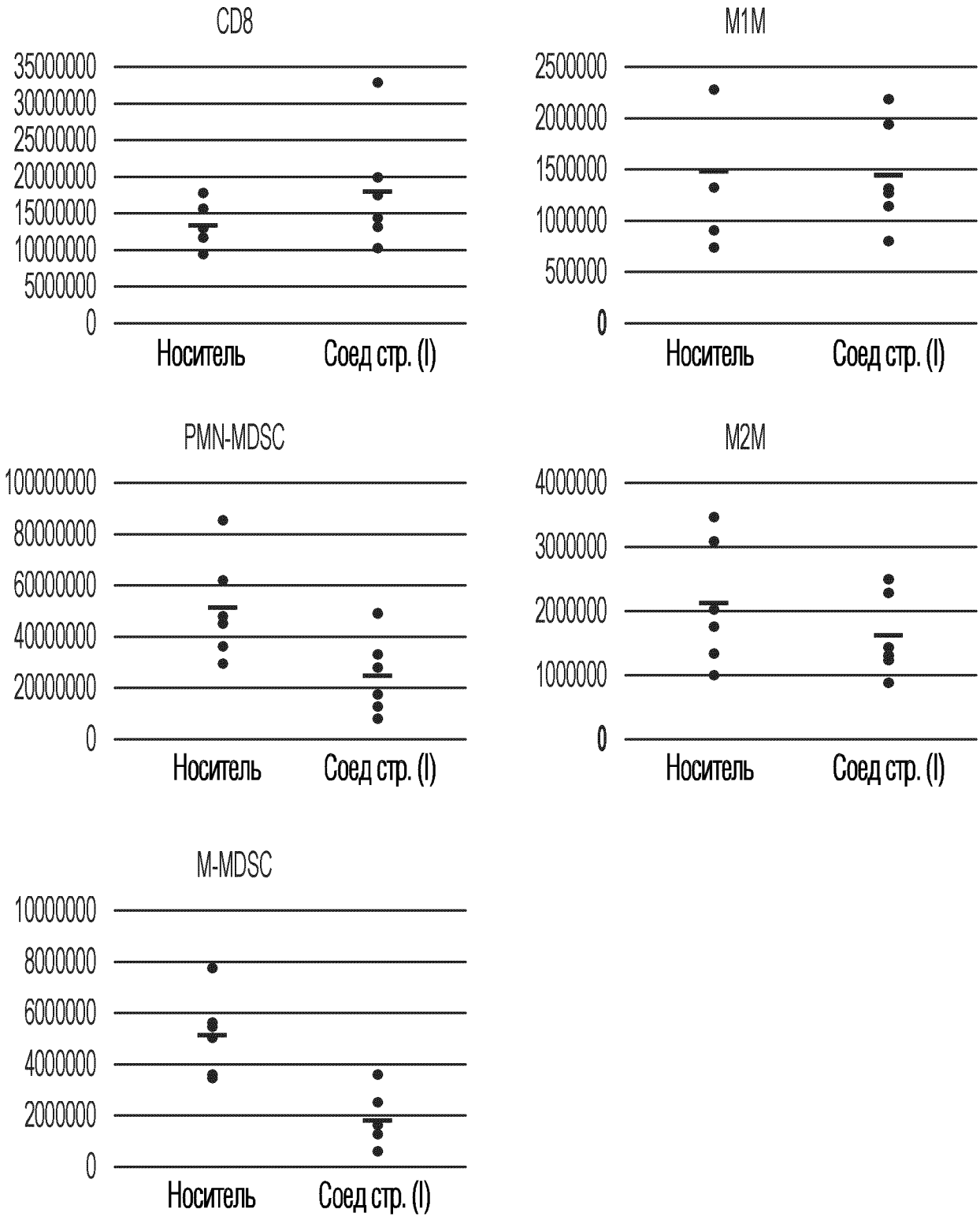
ФИГ. 55



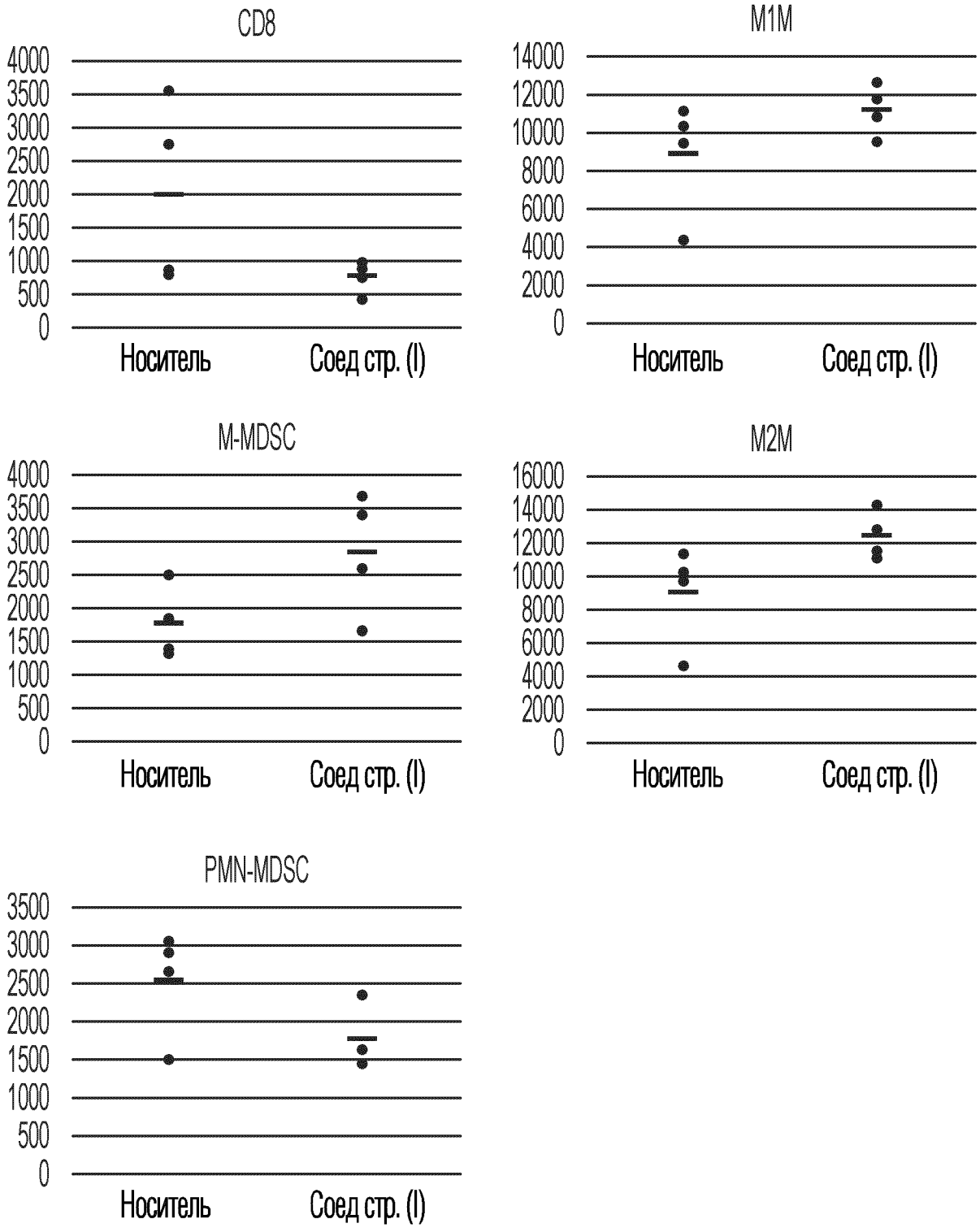
ФИГ. 56A


Носитель + aCD8
aPD-1 + aCD8
Соед. стр. (I) + aCD8
Соед. стр. (I) + aPD-1 + aCD8
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
35

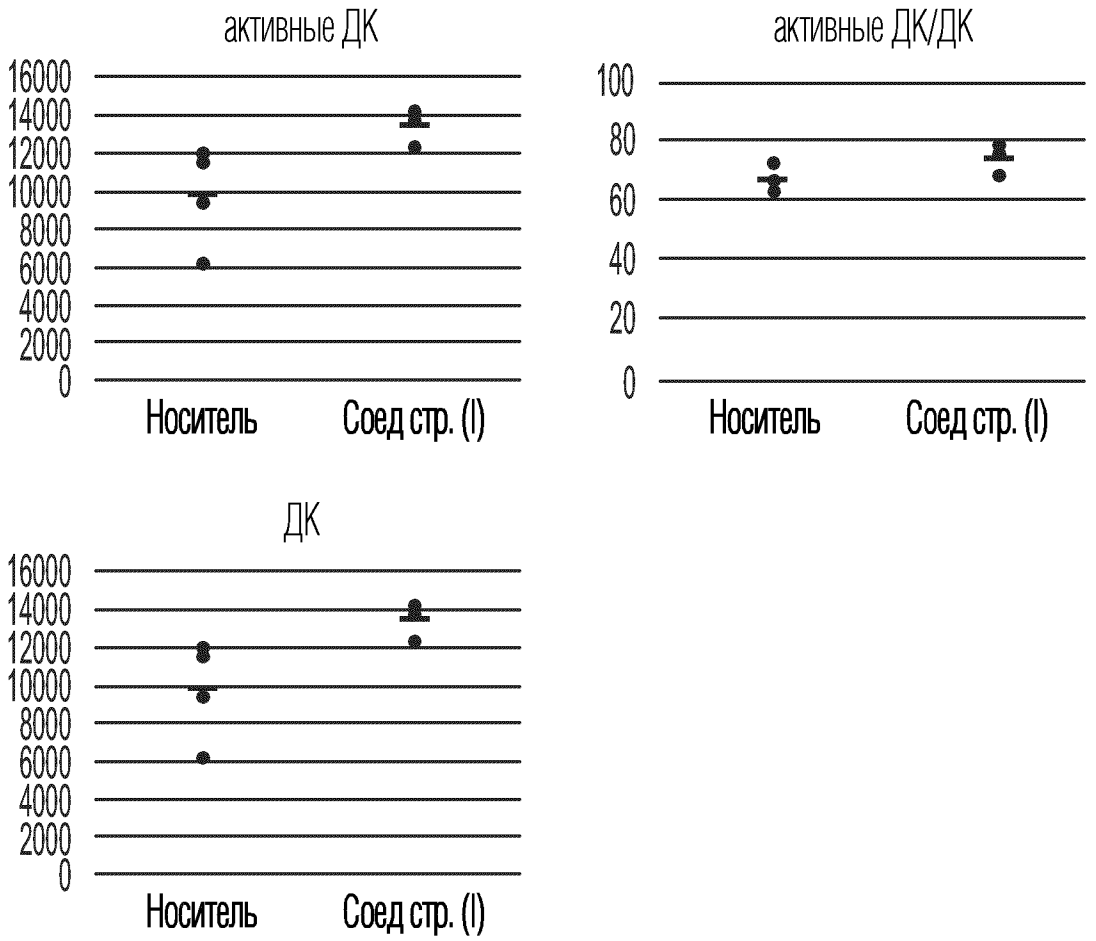
ФИГ. 56B


CD8
35000000
30000000
25000000
20000000
15000000
10000000
5000000
0
Носитель
Соед стр. (I)
M1M
2500000
2000000
1500000
1000000
500000
0
Носитель
Соед стр. (I)
PMN-MDSC
100000000
80000000
60000000
40000000
20000000
0
Носитель
Соед стр. (I)
M2M
4000000
3000000
2000000
1000000
0
Носитель
Соед стр. (I)
M-MDSC
10000000
8000000
6000000
4000000
2000000
0
Носитель
Соед стр. (I)

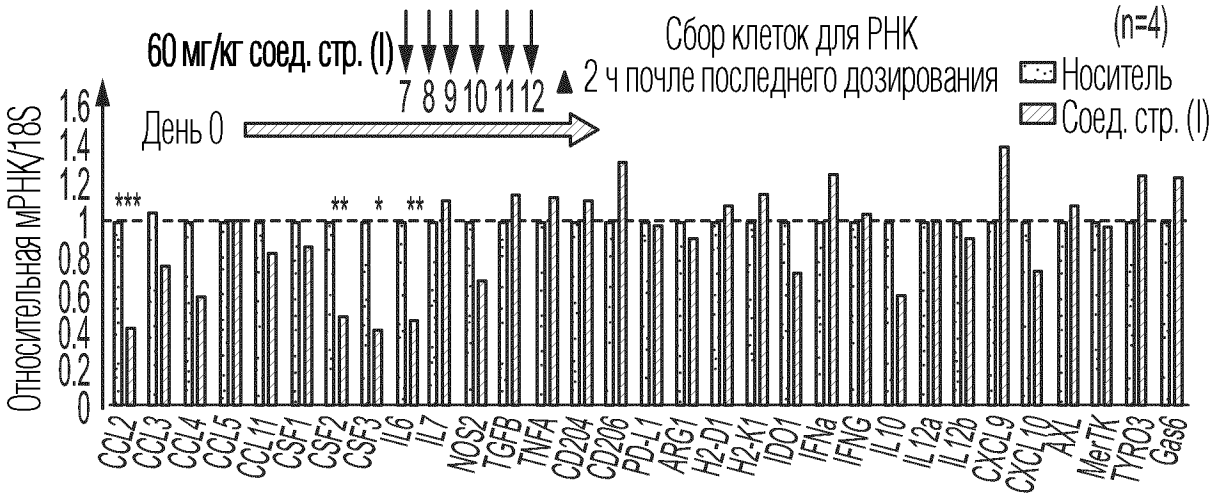
ФИГ. 57


CD8
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
Носитель
Соед стр. (I)
M1M
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
Носитель
Соед стр. (I)
M-MDSC
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
Носитель
Соед стр. (I)
M2M
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
Носитель
Соед стр. (I)
PMN-MDSC
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
Носитель
Соед стр. (I)

ФИГ. 58A

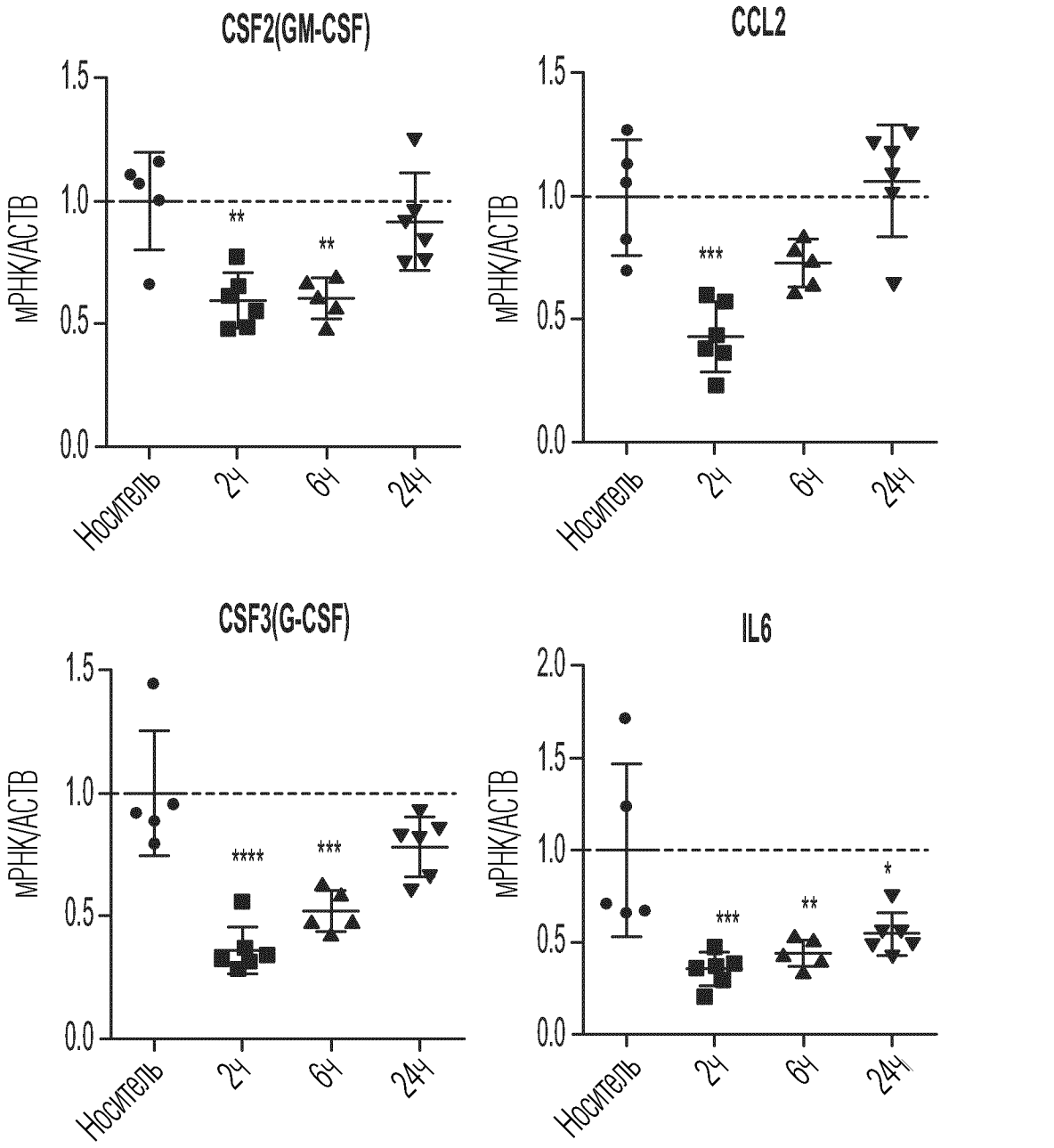


ФИГ. 58B



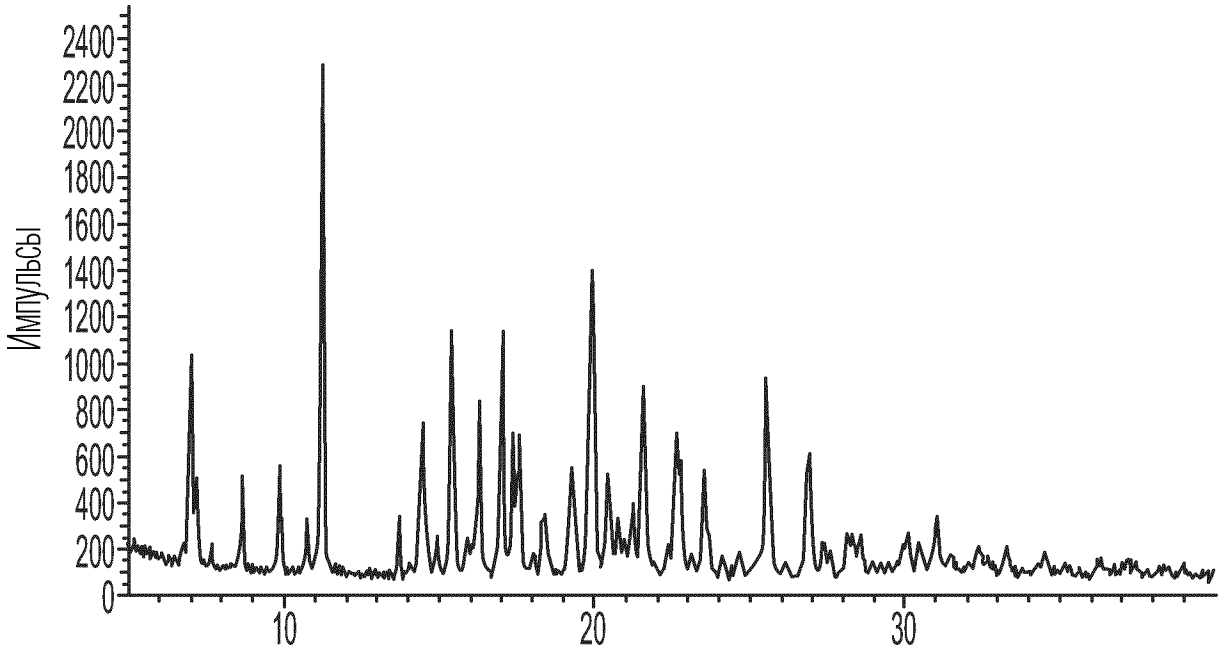
Относительное количествао мРНК было стандартизировано с 18S
Т-критерий: *<0,05, **<0,01, ***<0,001

ФИГ. 59

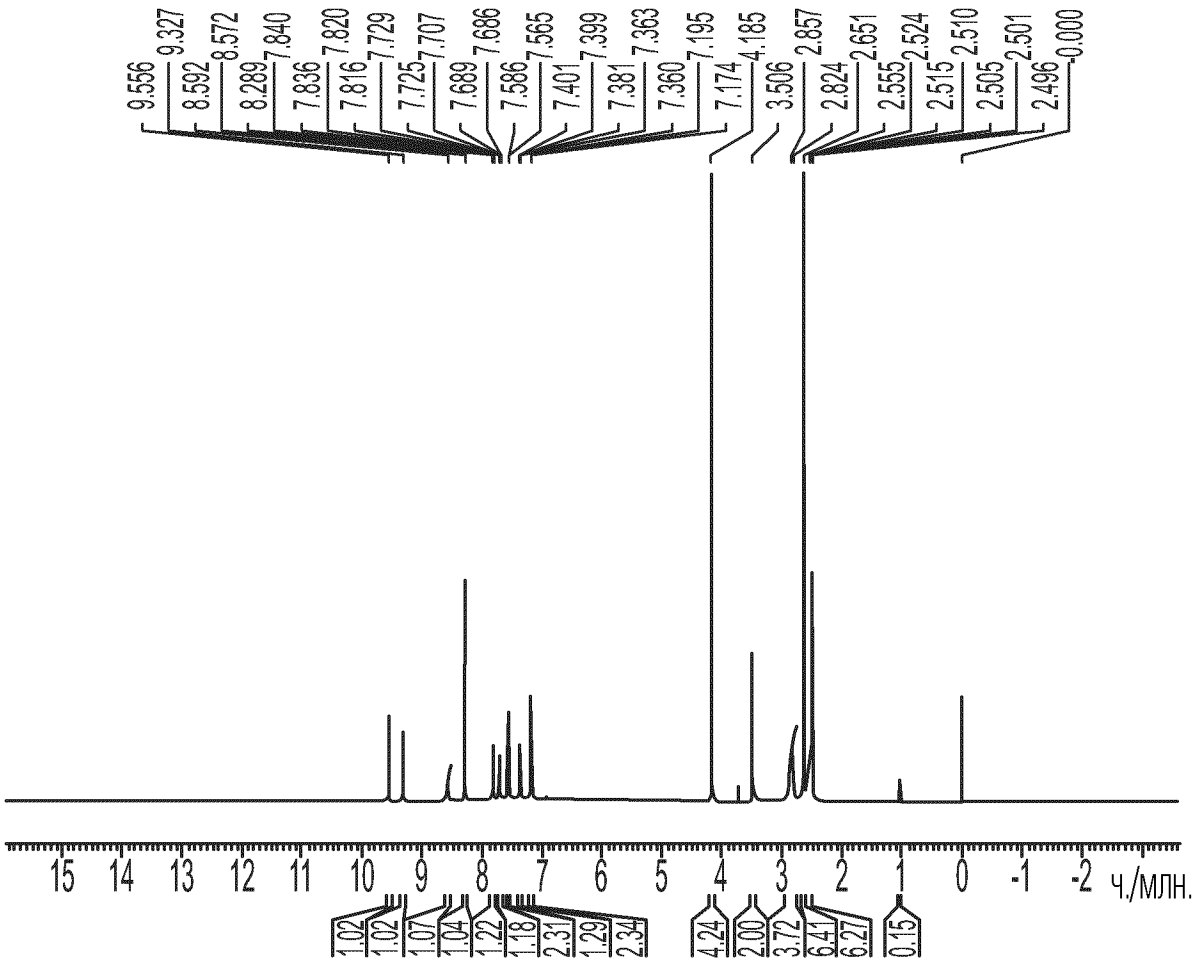


Критерий множественных сравнений Даннетта
*P<0.05, **P<0.01,***P<0.001 ****P<0.0001

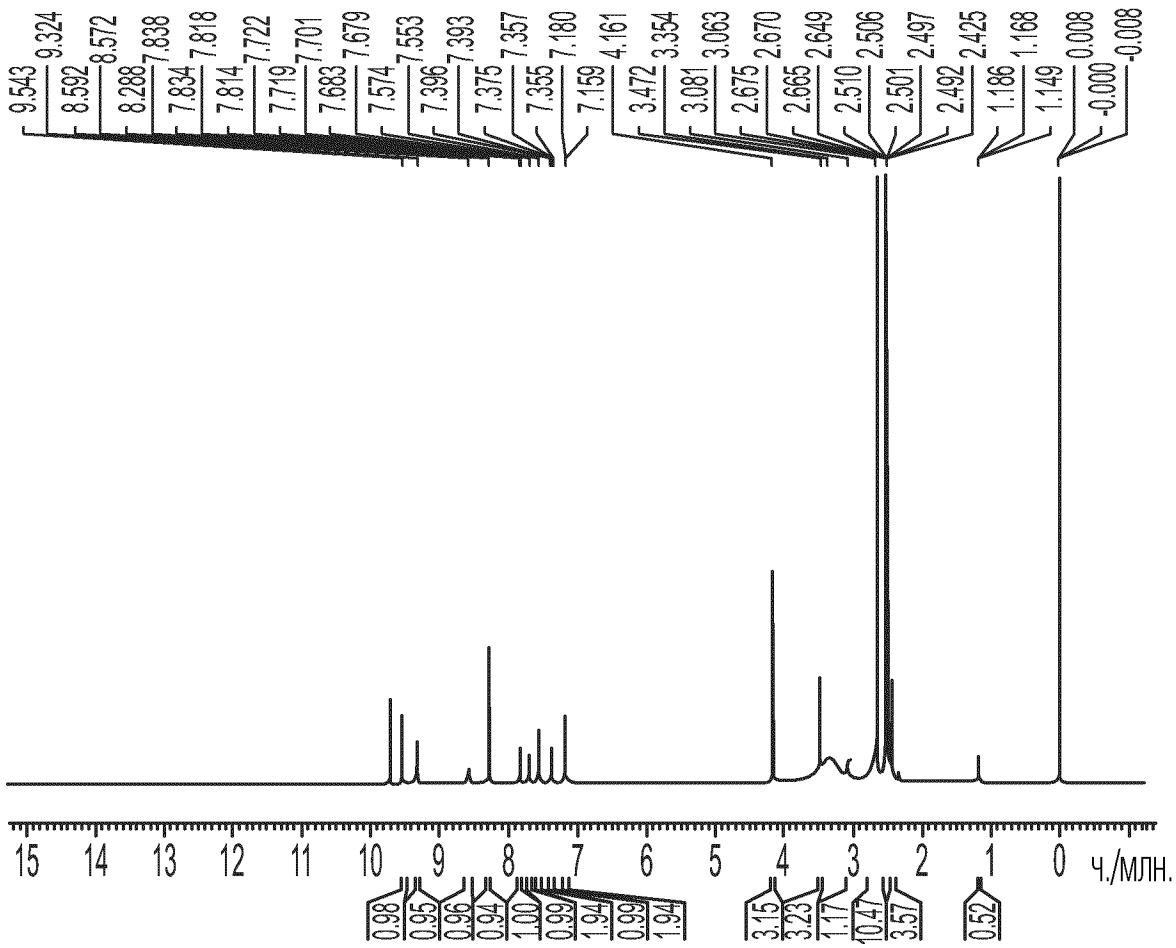
ФИГ. 60



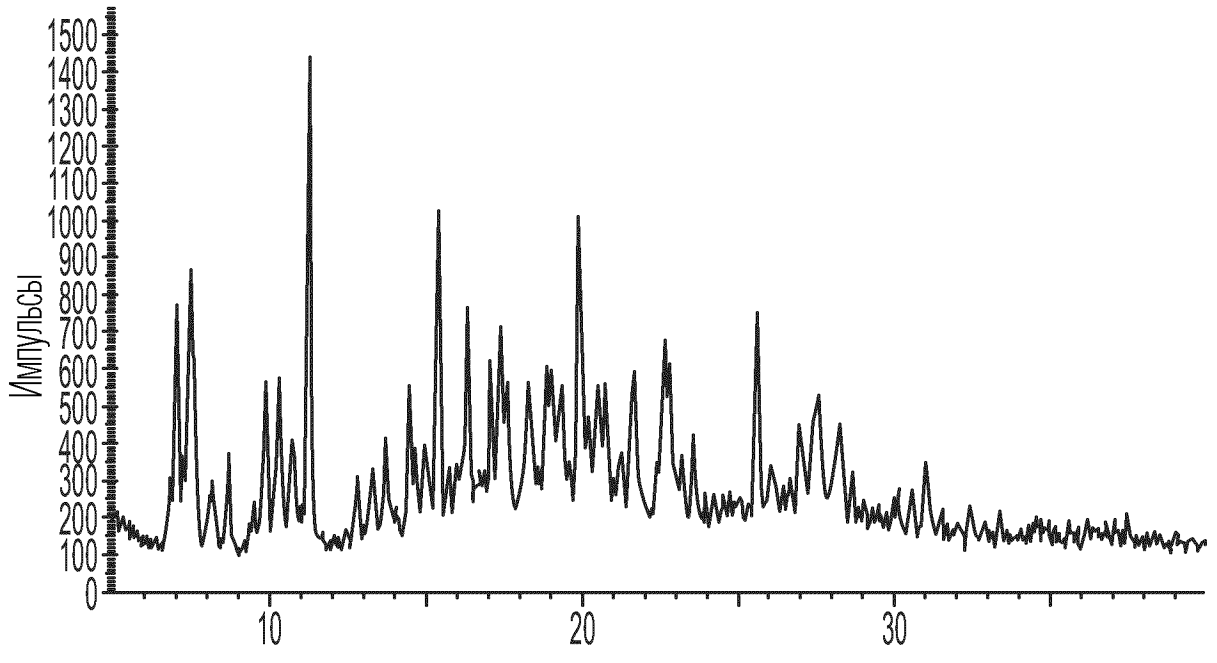
ФИГ. 61A



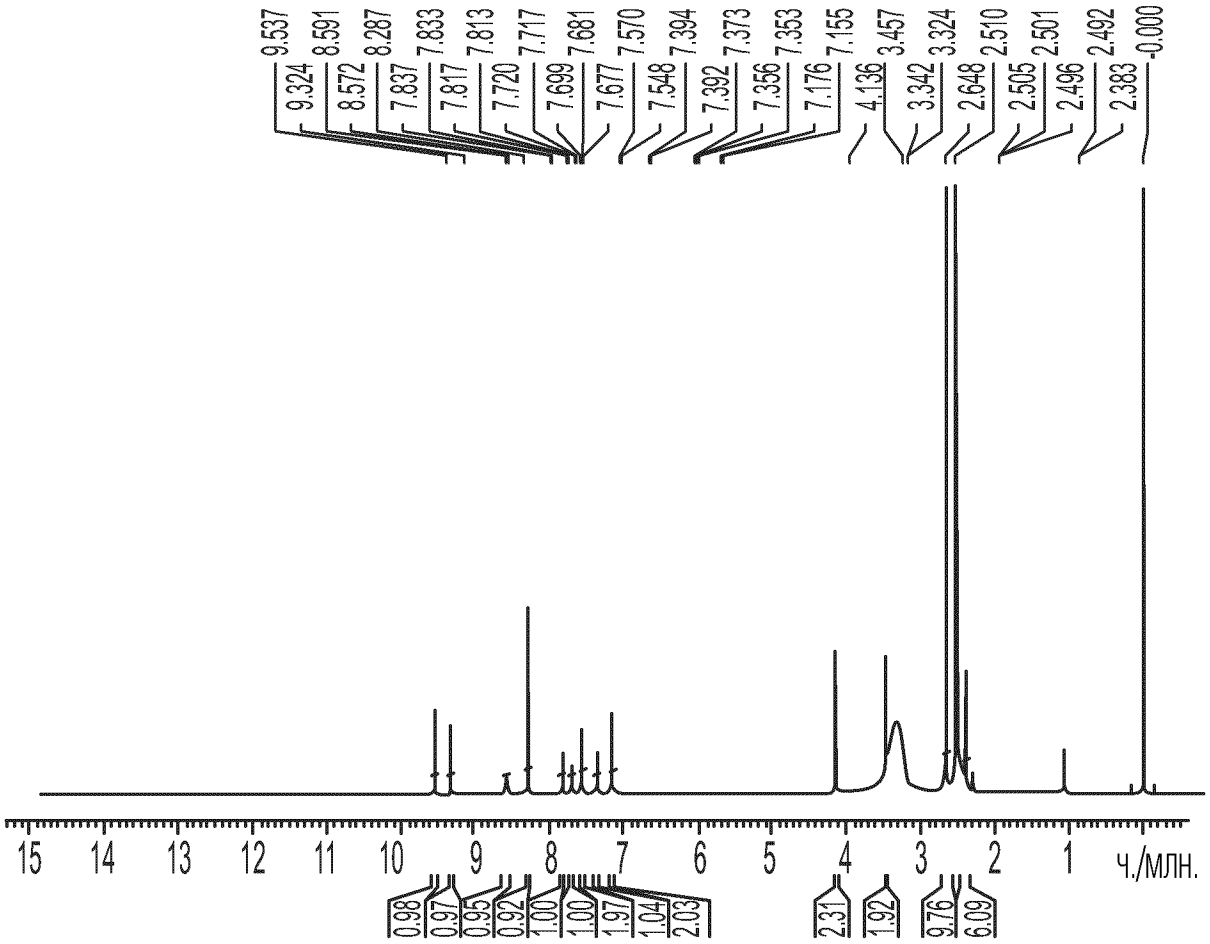
ФИГ. 61B



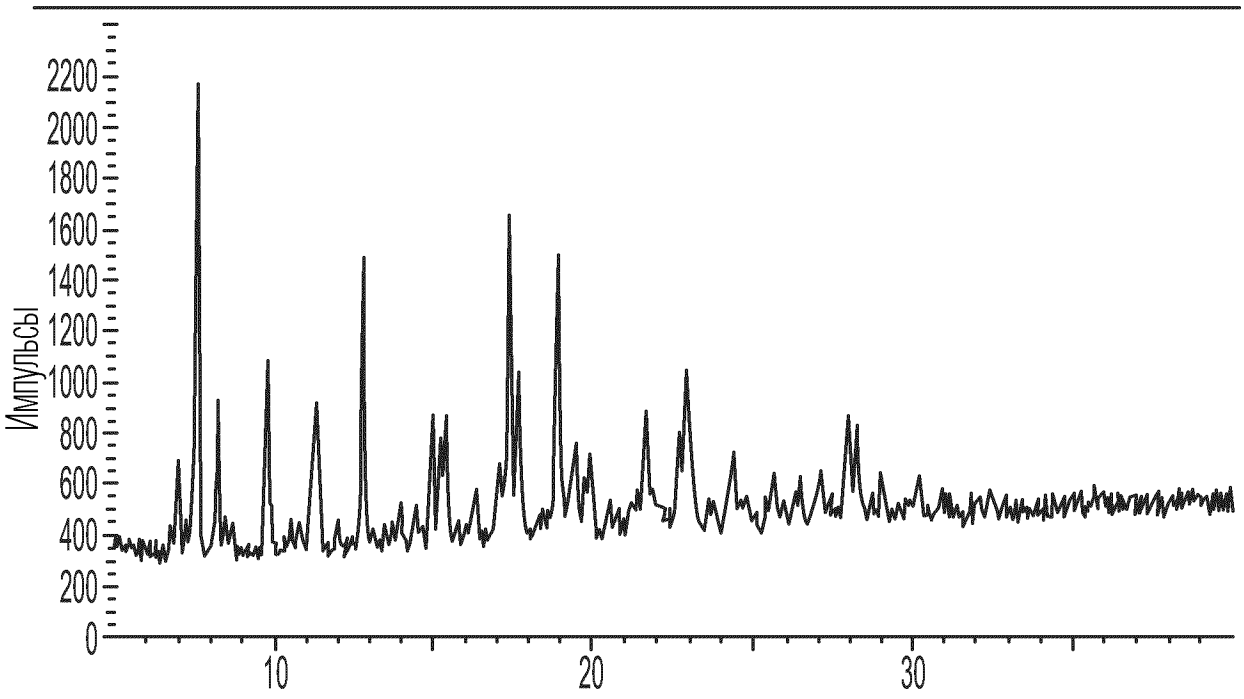
ФИГ. 61C



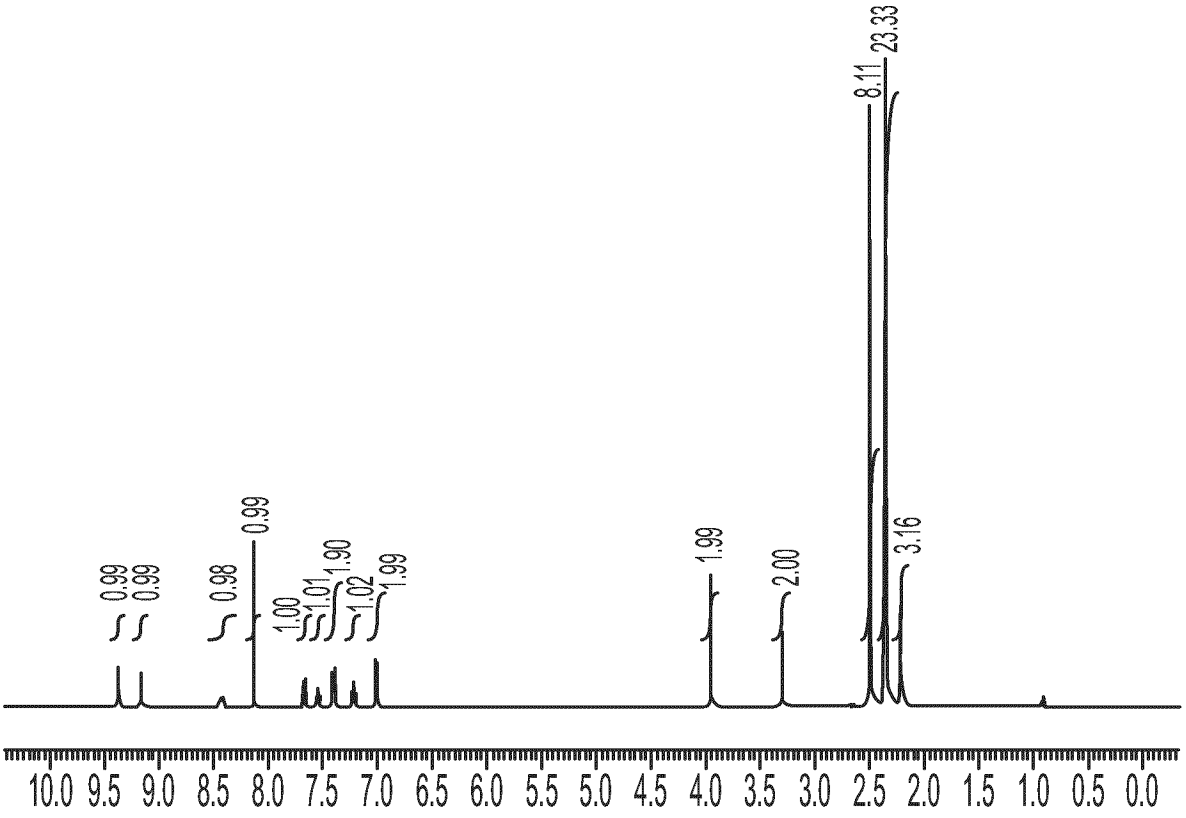
ФИГ. 62A



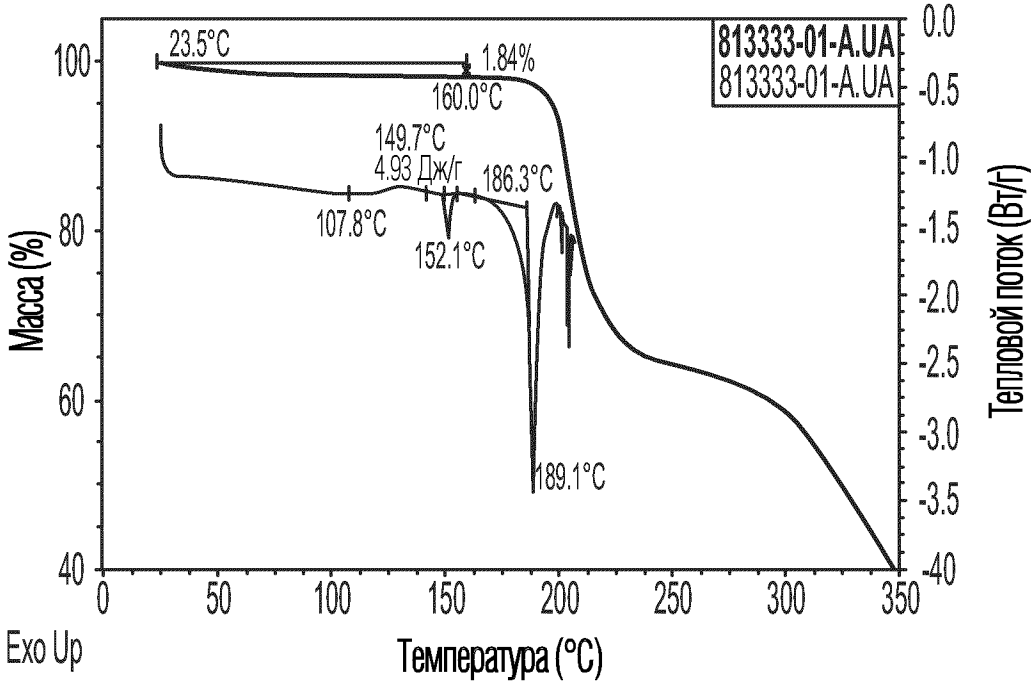
ФИГ. 62B



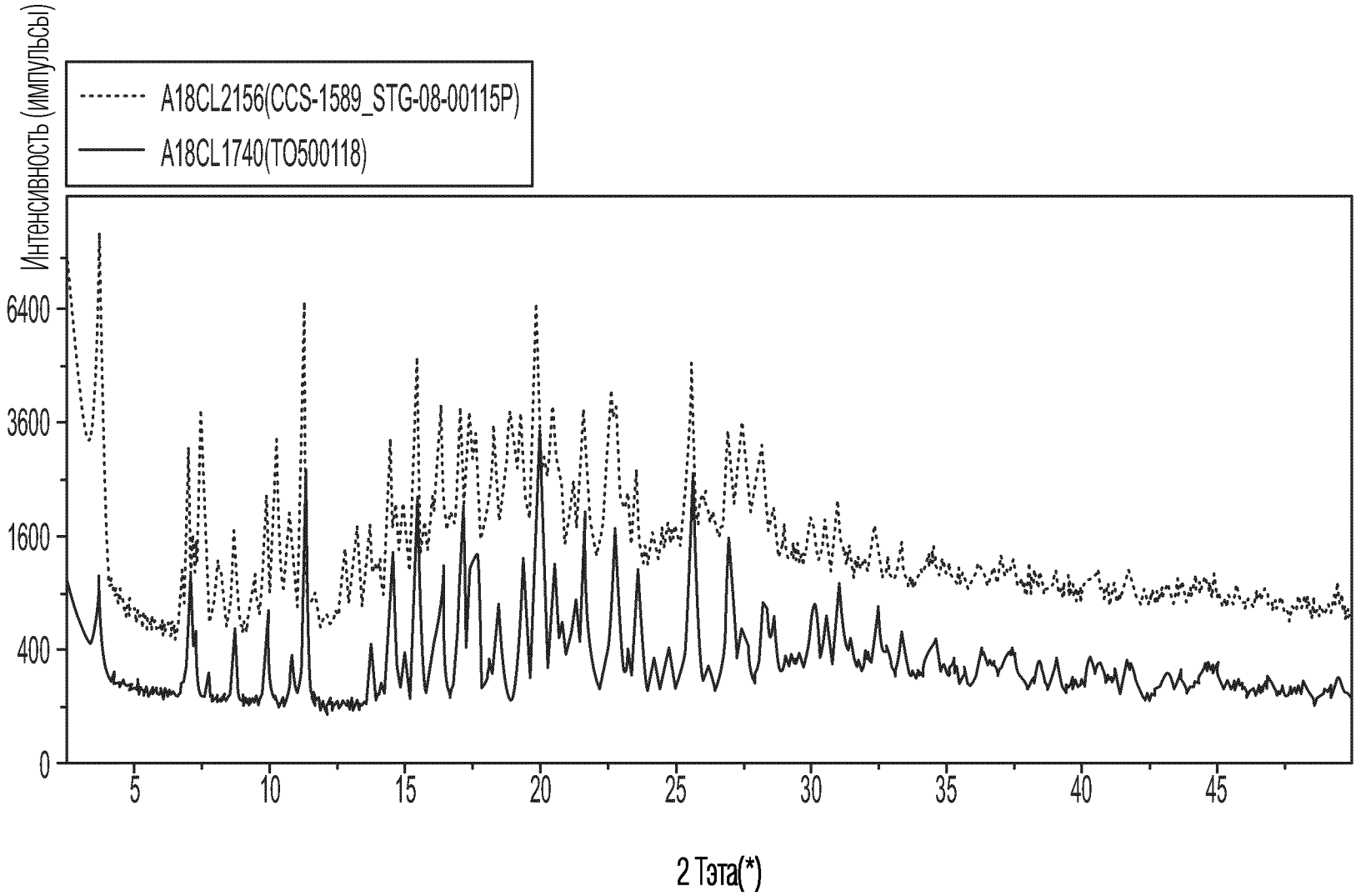
ФИГ. 63A



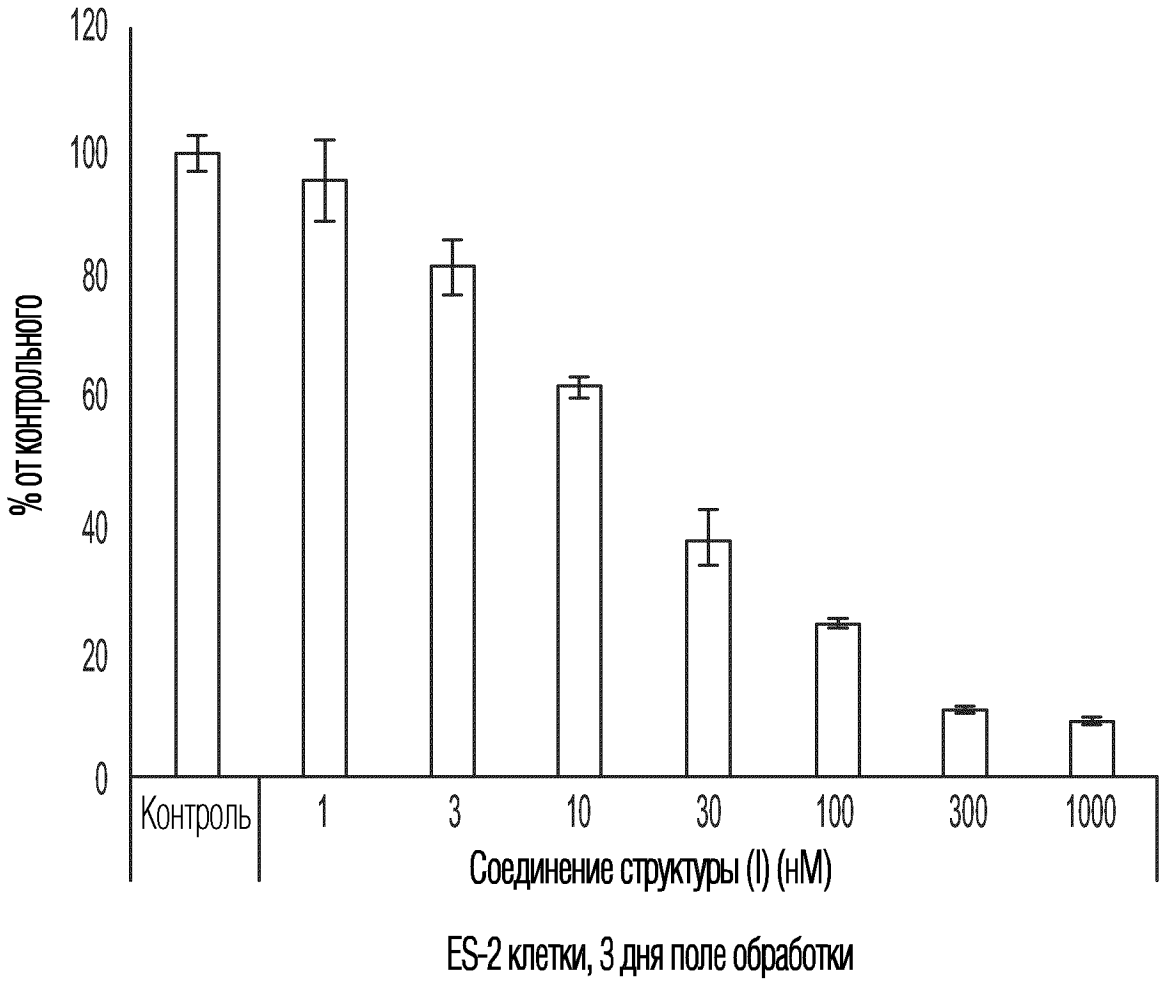
ФИГ. 63B



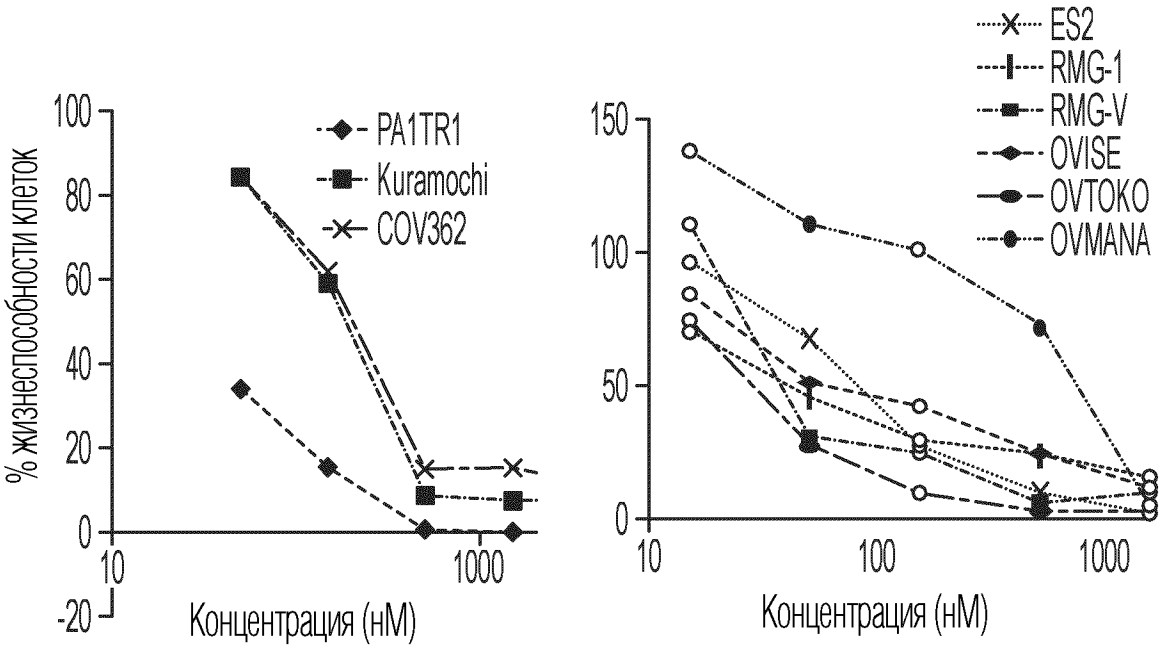
ФИГ. 64


A18CL2156(CCS-1589_STG-08-00115P)
A18CL1740(TO500118)
Интенсивность (импульсы)
6400
3600
1600
400
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
2 Тэта(*)

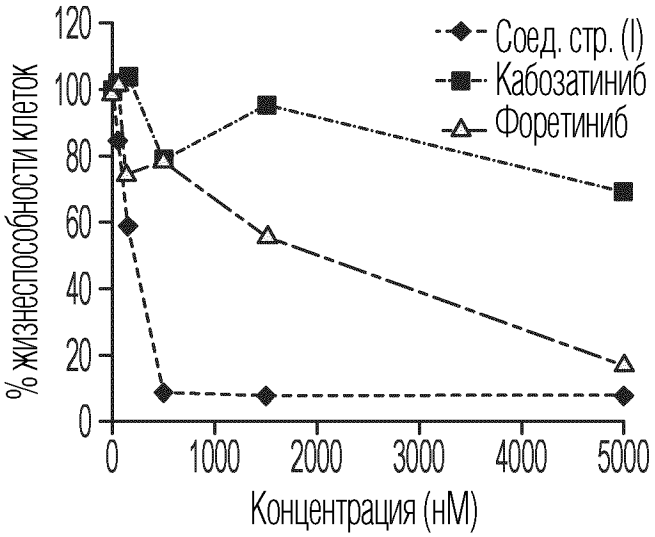
ФИГ. 65


120
100
80
60
40
20
0
% от контрольного
Контроль
1
3
10
30
100
300
1000
Соединение структуры (I) (нМ)
ES-2 клетки, 3 дня поле обработки

ФИГ. 66

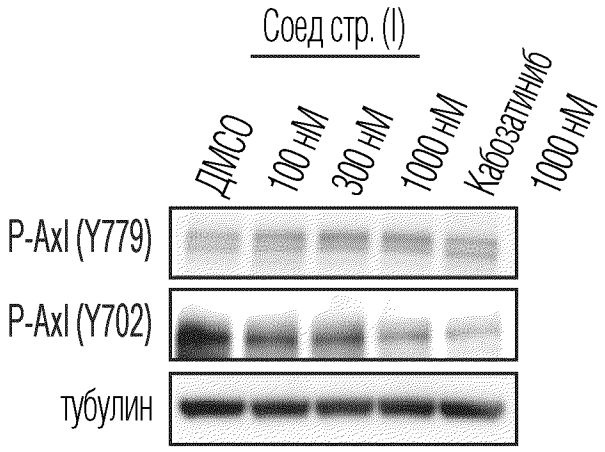


Колония клеток	CDDP (мкМ)	Соед. стр. (I) (мкМ)	Колония клеток (светлые клетки)	CDDP (мкМ)	Соед. стр. (I) (мкМ)
A2780	1.3	N.A.	ES-2	5	0.094
PA-1	0.08	N.A.	RMG-I	5.5	0.043
PA-1TR1	2.6	0.038	RMG-V	1.5	0.041
Cov362	>5	0.24	OVISE	1	0.06
Kuramochi	>5	0.21	OVTOKO	1	0.033
			OVMANA	3.2	0.84

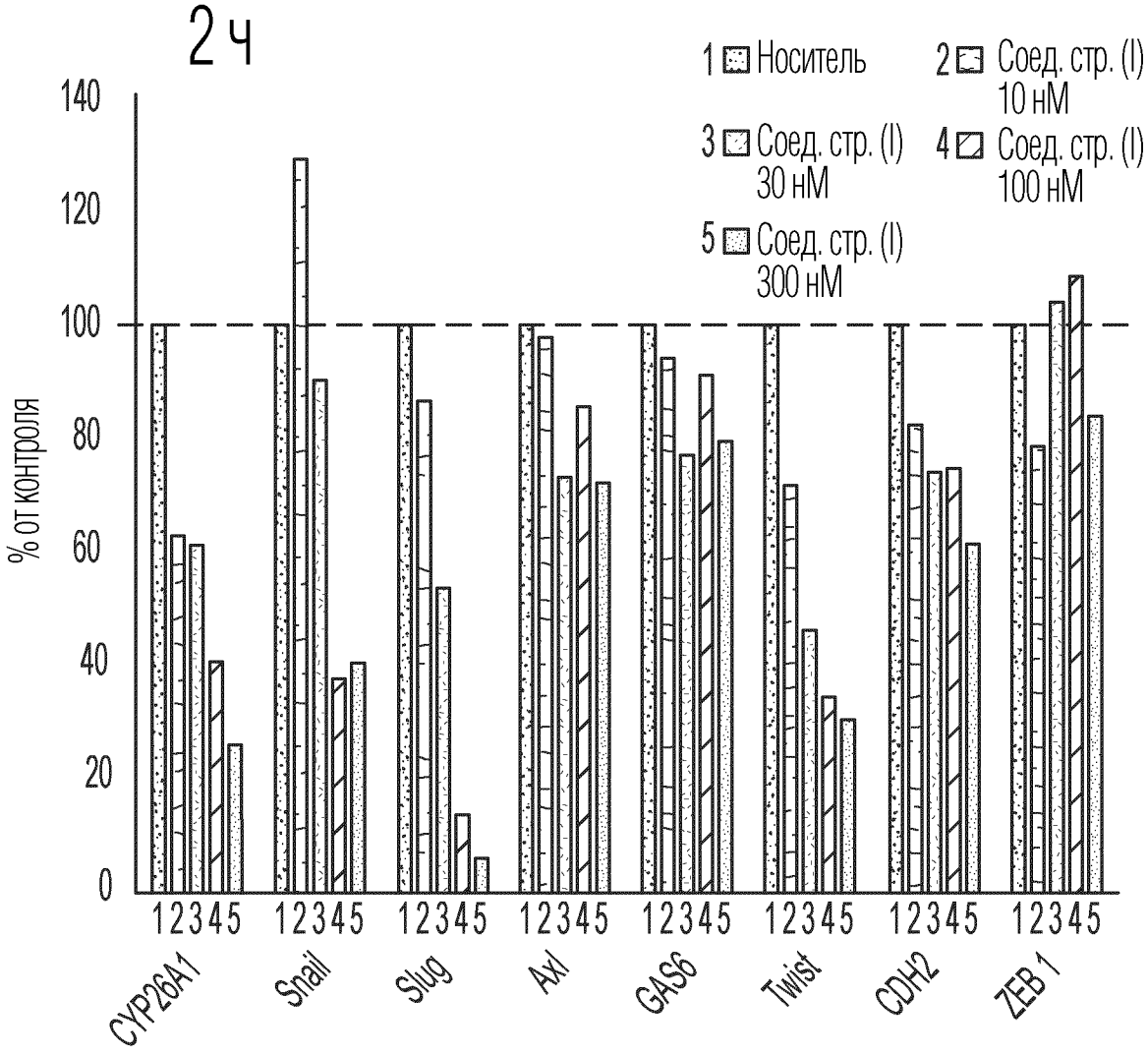


Kuramochi	IC50 (нМ)
Соед. стр. (I)	214
Кабозатиниб	>5000
Форетиниб	2054

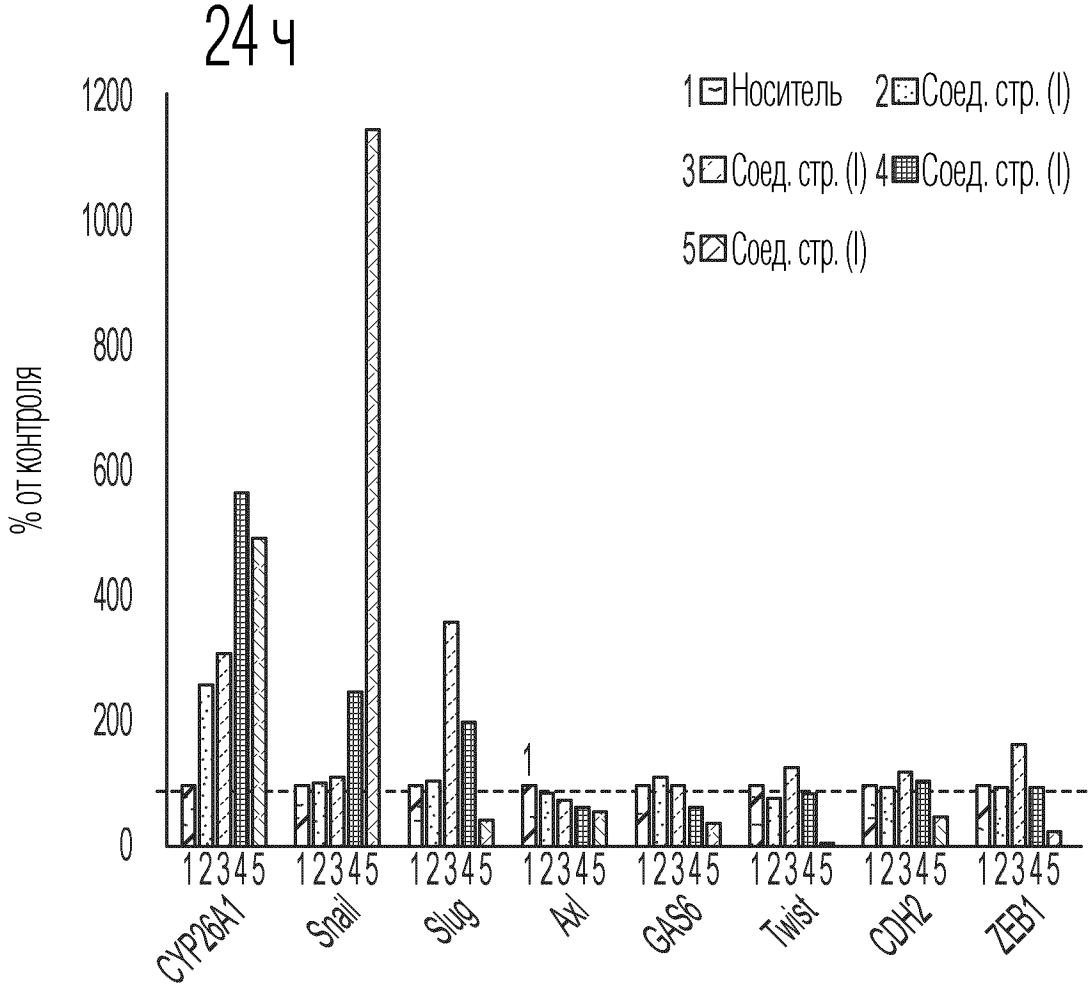
ФИГ. 67


Соед стр. (I)
ДМСО
100 нМ
300 нМ
1000 нМ
Кабозантиниб
1000 нМ
P-Axl (Y779)
P-Axl (Y702)
тубулин

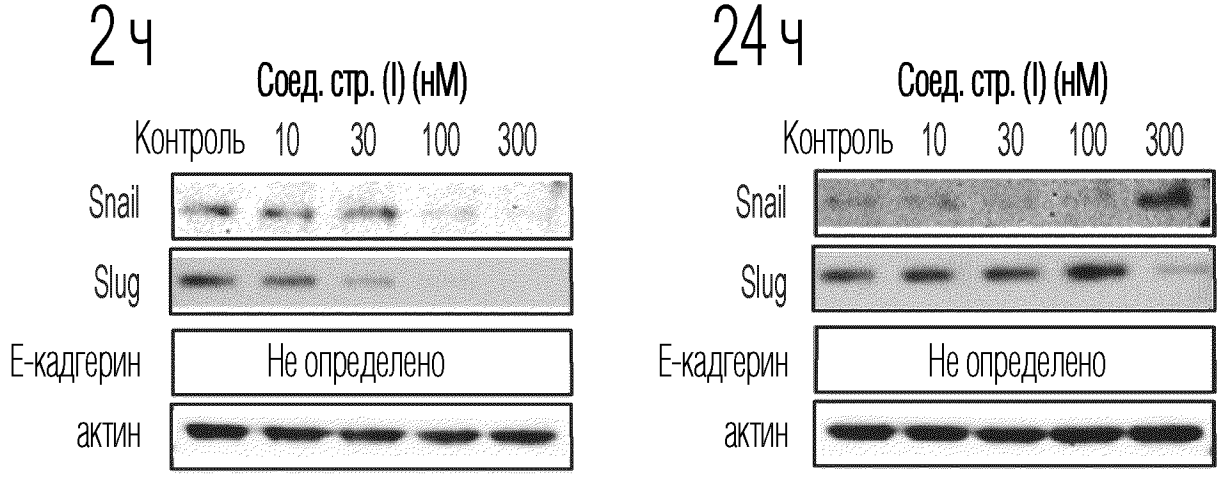
ФИГ. 68


2 ч
1 Носитель
2 Соед. стр. (I) 10 нМ
3 Соед. стр. (I) 30 нМ
4 Соед. стр. (I) 100 нМ
5 Соед. стр. (I) 300 нМ
% от контроля
140
120
100
80
60
40
20
0
1 2 3 4 5
CYP26A1
Snail
Slug
Axl
GAS6
Twist
CDH2
ZEB 1

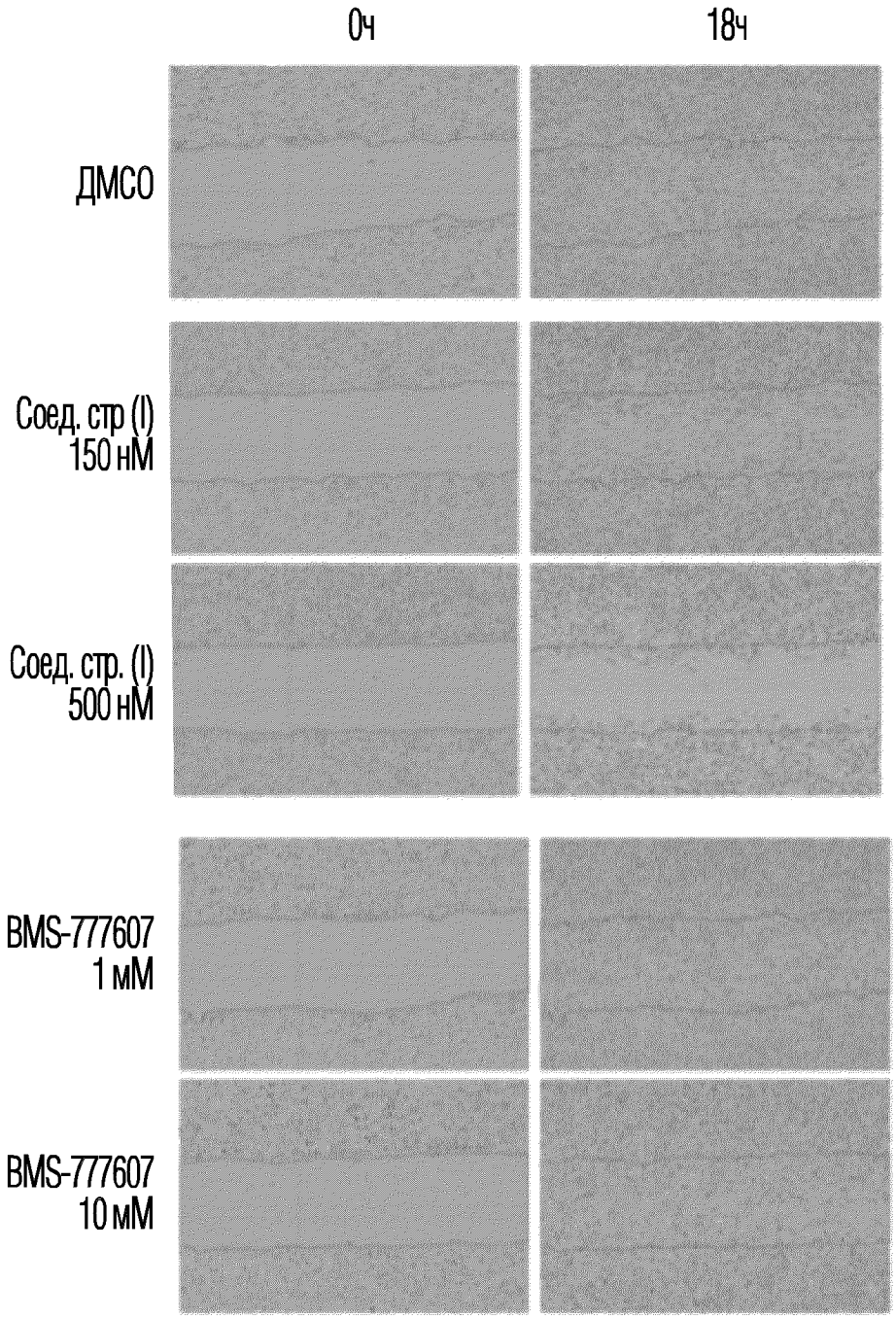
ФИГ. 69


24 ч
1 Носитель
2 Соед. стр. (I)
3 Соед. стр. (I)
4 Соед. стр. (I)
5 Соед. стр. (I)
% от контроля
1200
1000
800
600
400
200
0
1
12345
CYP26A1
Snail
Slug
Axl
GAS6
Twist
CDH2
ZEB1

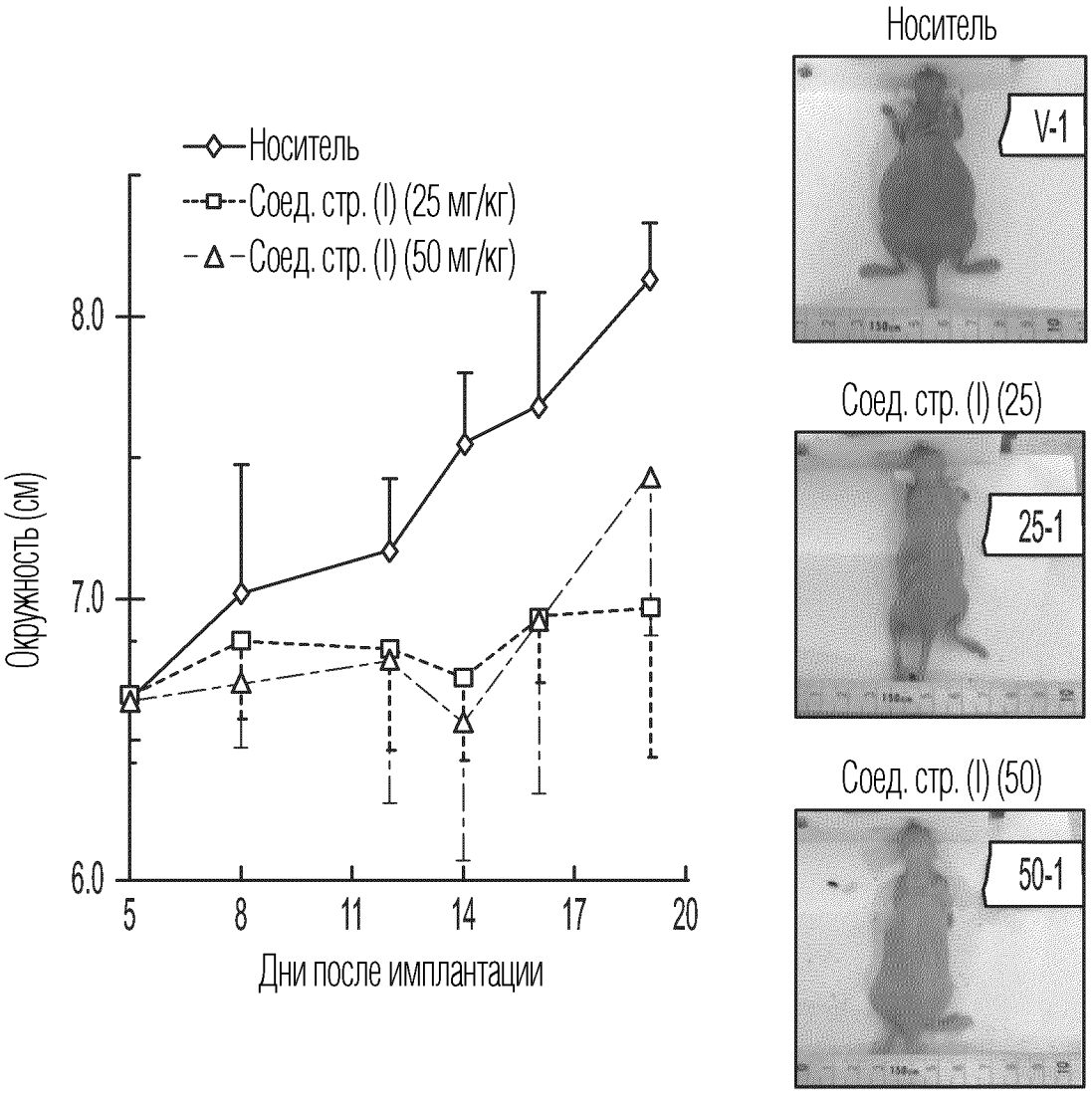
ФИГ. 70


2 ч
Соед. стр. (I) (нМ)
Контроль 10 30 100 300
Snail
Slug
E-кадгерин
Не определено
актин
24 ч
Соед. стр. (I) (нМ)
Контроль 10 30 100 300
Snail
Slug
E-кадгерин
Не определено
актин

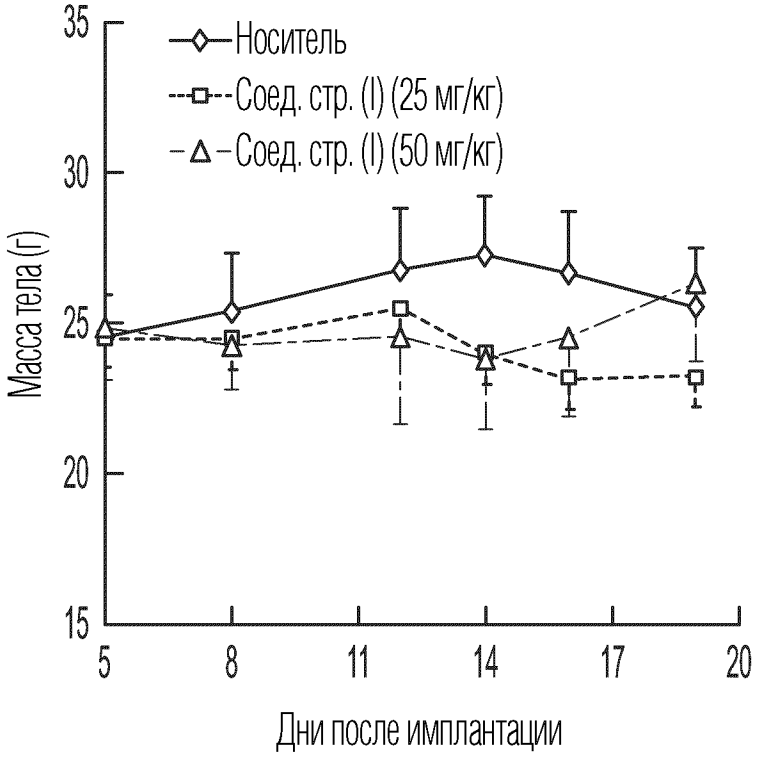
ФИГ. 71


0ч
18ч
ДМСО
Соед. стр (I)
150 нМ
Соед. стр. (I)
500 нМ
BMS-777607
1 мМ
BMS-777607
10 мМ

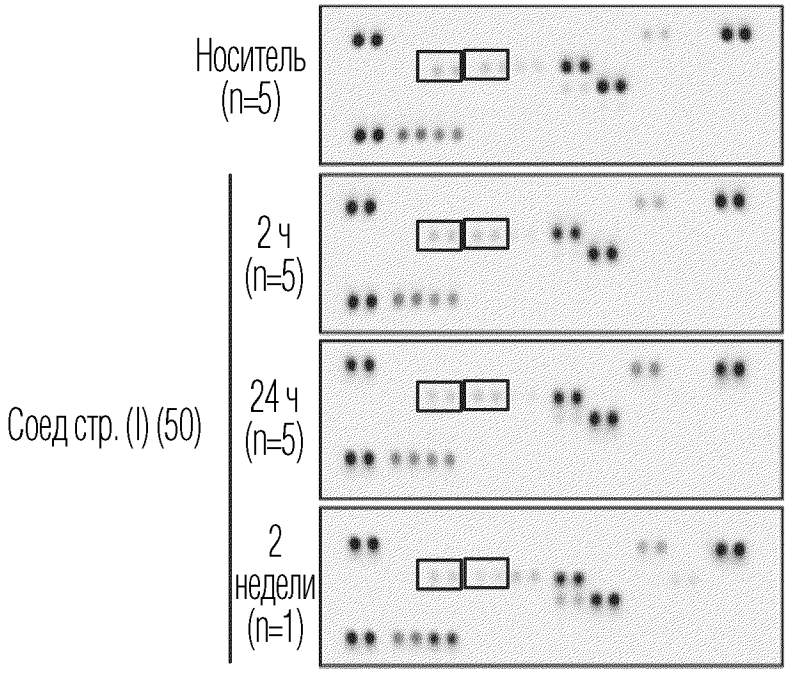
ФИГ. 72


Носитель
Соед. стр. (I) (25 мг/кг)
Соед. стр. (I) (50 мг/кг)
Окружность (см)
8.0
7.0
6.0
5
8
11
14
17
20
Дни после имплантации
Носитель
V-1
Соед. стр. (I) (25)
25-1
Соед. стр. (I) (50)
50-1

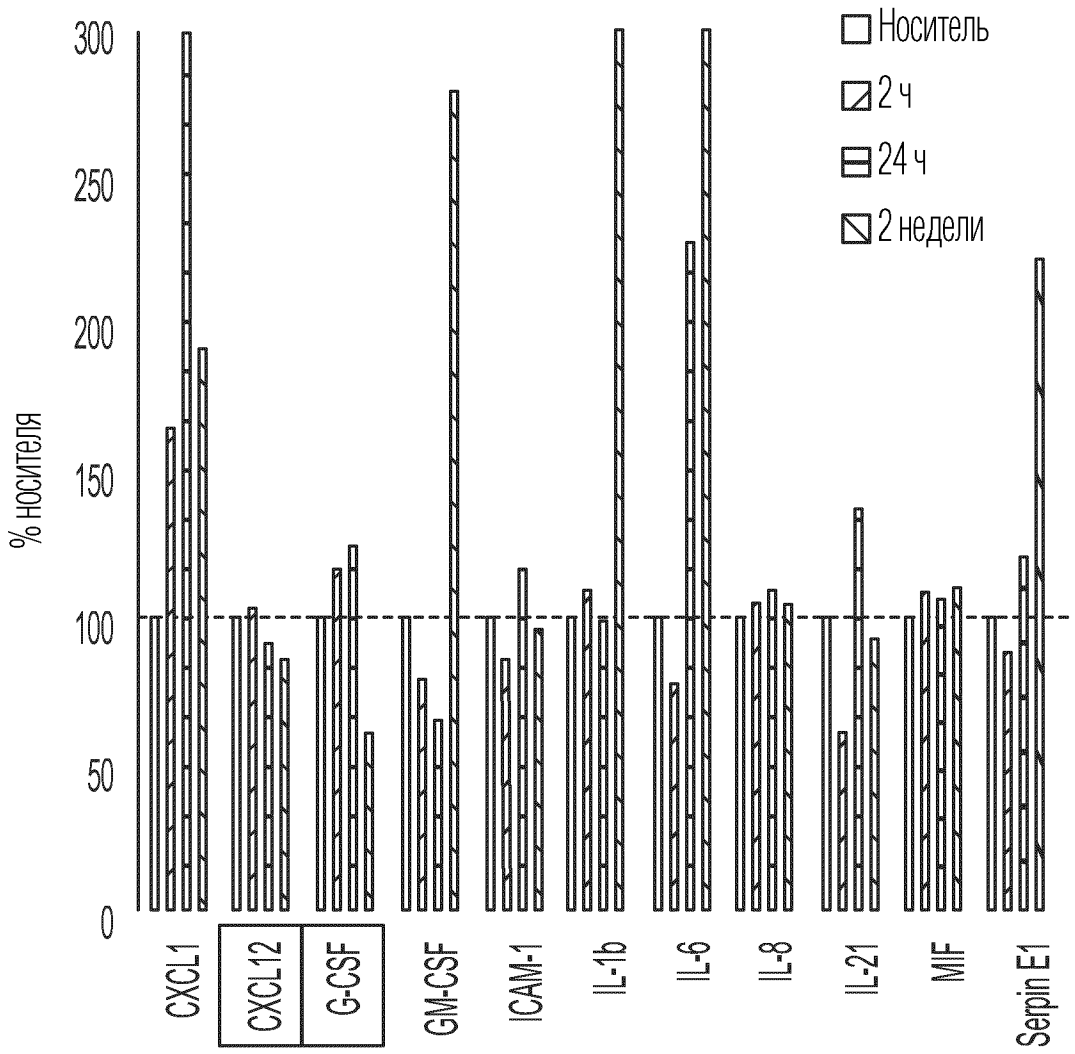
ФИГ. 73



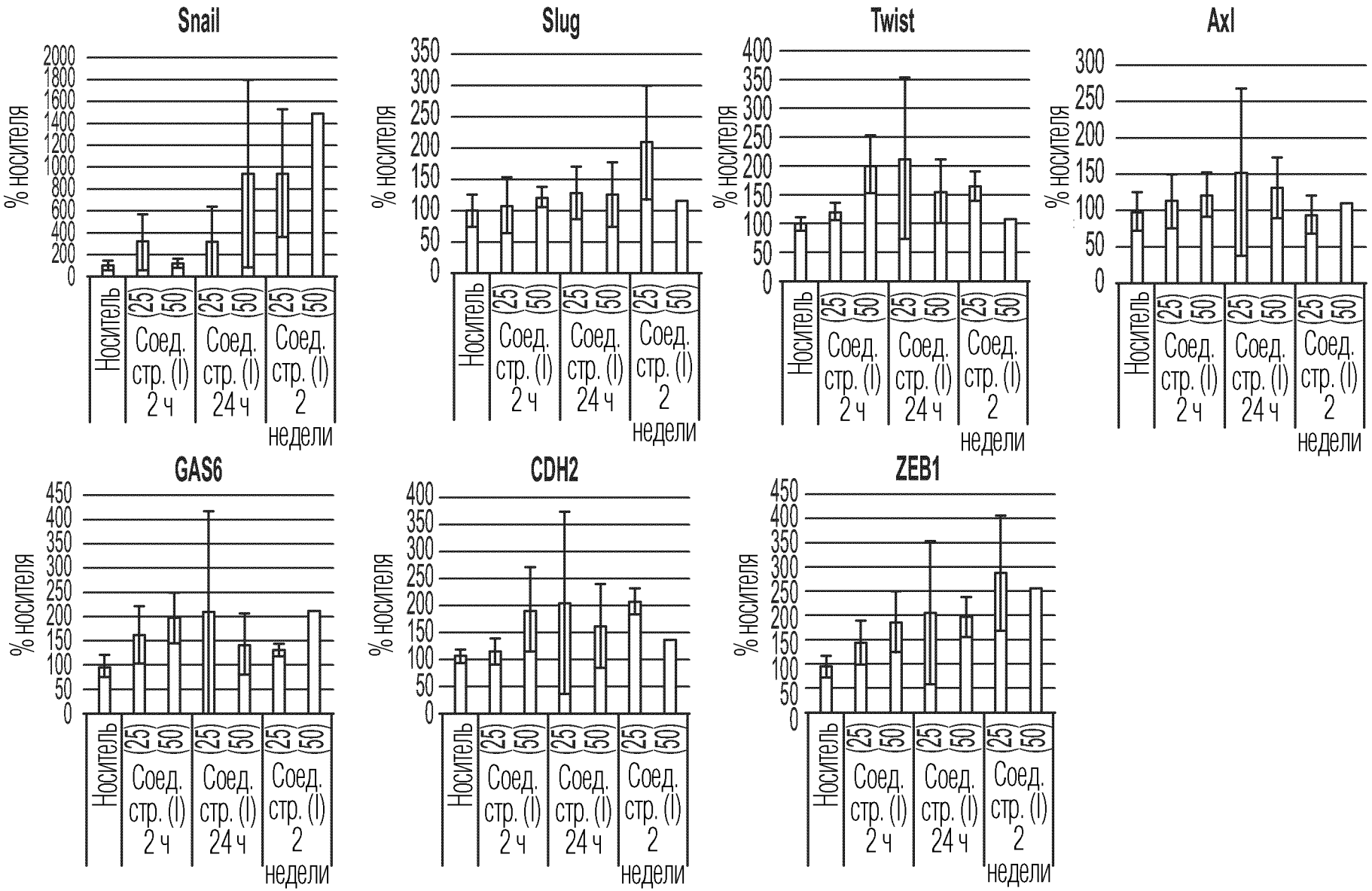
ФИГ. 74



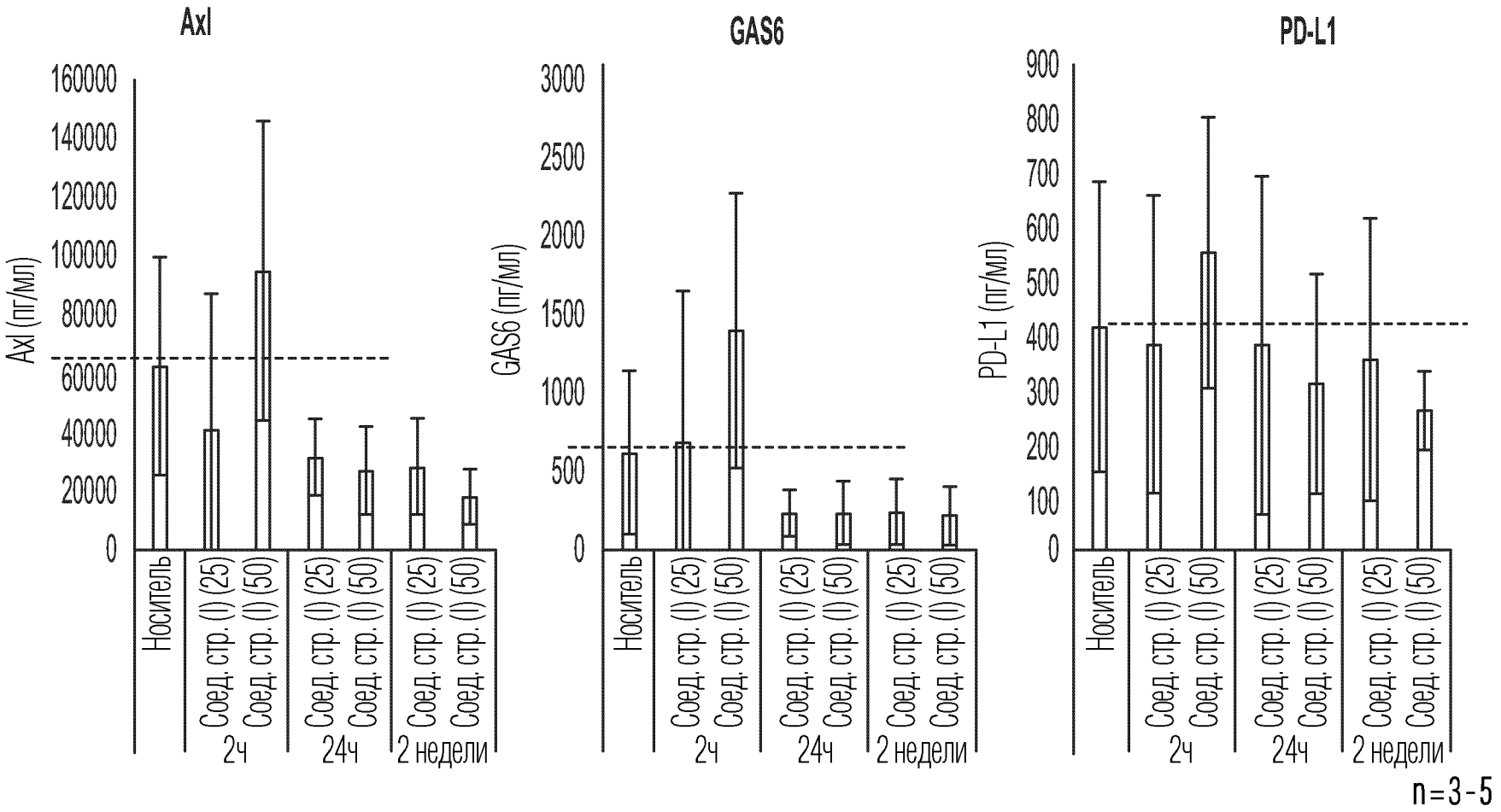
ФИГ. 75А


Носитель
2 ч
24 ч
2 недели
% носителя
300
250
200
150
100
50
0
CXCL1
CXCL12
G-CSF
GM-CSF
ICAM-1
IL-1b
IL-6
IL-8
IL-21
MIF
Serpin E1

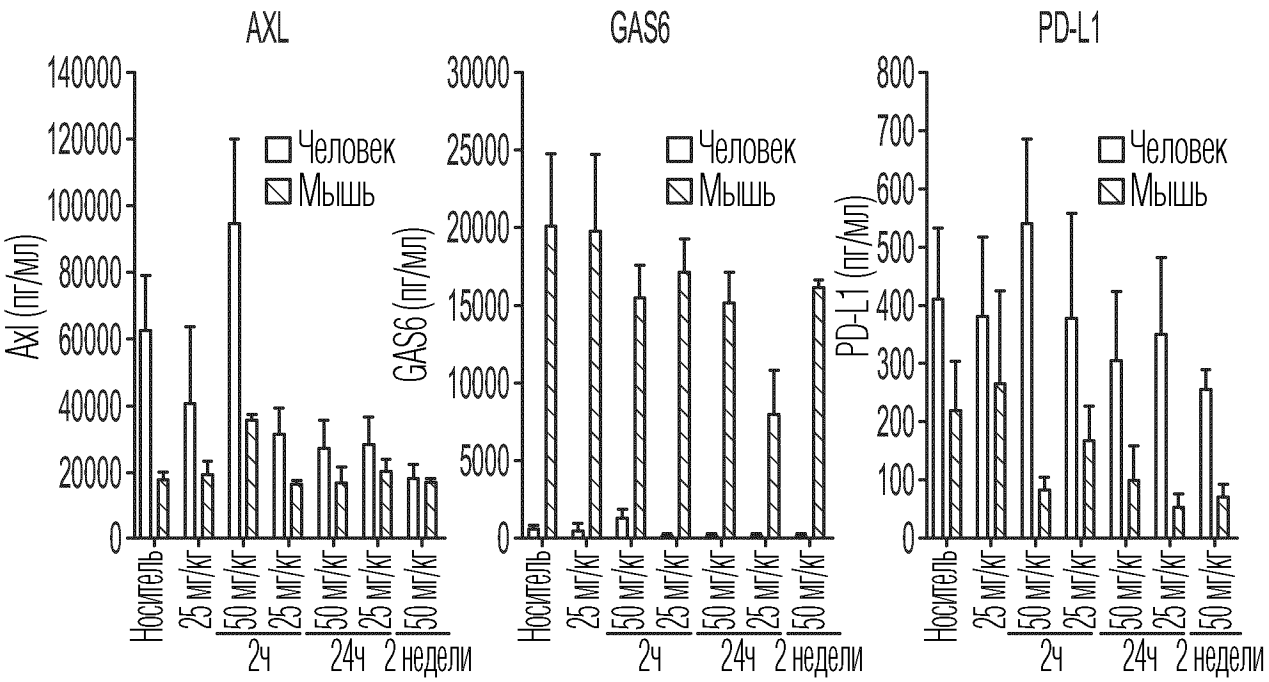
ФИГ. 75B


Snail
Slug
Twist
Axl
GAS6
CDH2
ZEB1
% носителя
Носитель
(25) (50)
Соед. стр. (I) 2 ч
Соед. стр. (I) 24 ч
Соед. стр. (I) 2 недели

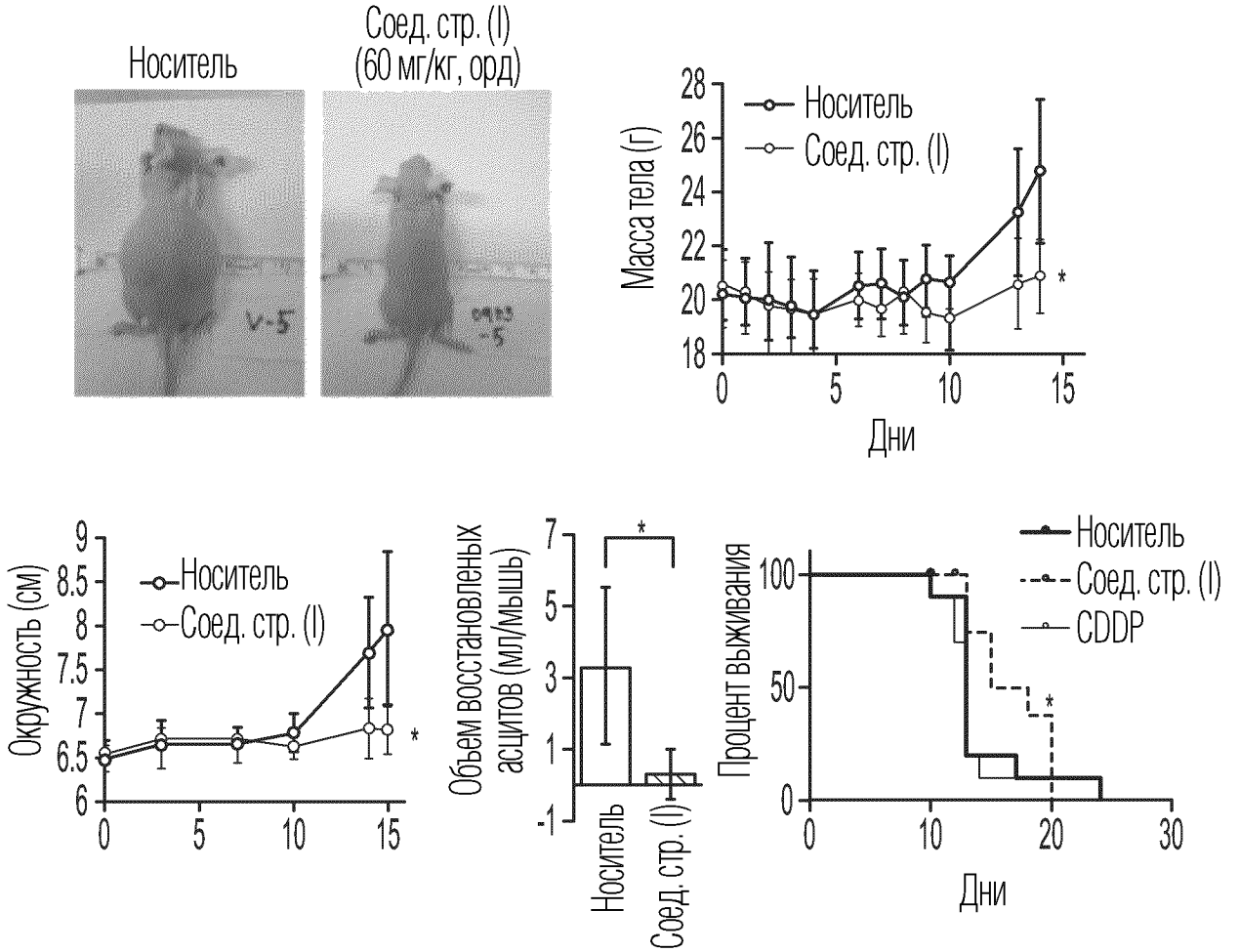
ФИГ. 76


Axl
Axl (пг/мл)
160000
140000
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
GAS6
GAS6 (пг/мл)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
PD-L1
PD-L1 (пг/мл)
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
Носитель
Соед. стр. (I) (25)
Соед. стр. (I) (50)
2ч
24ч
2 недели
n=3-5

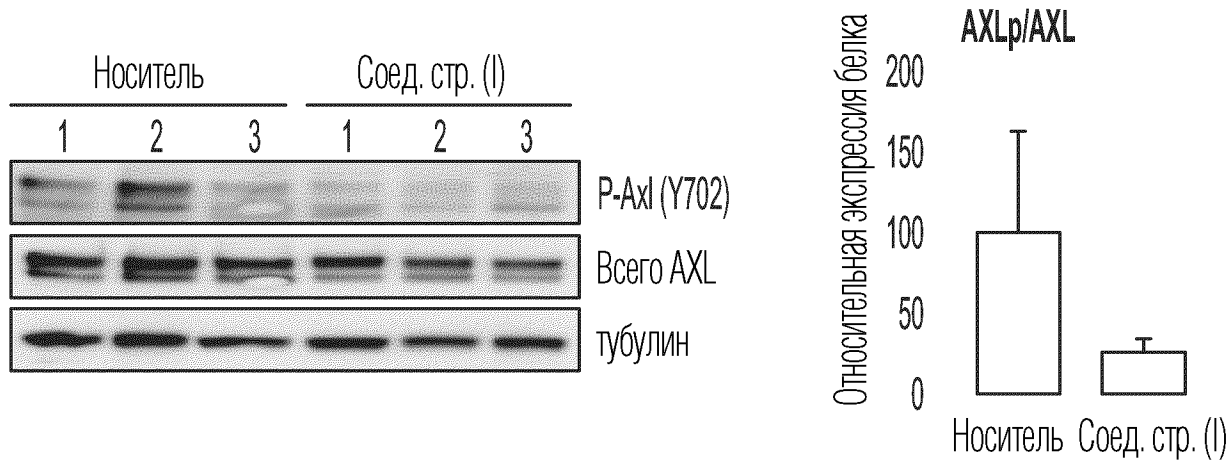
ФИГ. 77


AXL
GAS6
PD-L1
Axl (пг/мл)
GAS6 (пг/мл)
PD-L1 (пг/мл)
Человек
Мышь
Носитель
25 мг/кг
50 мг/кг
2ч
24ч
2 недели

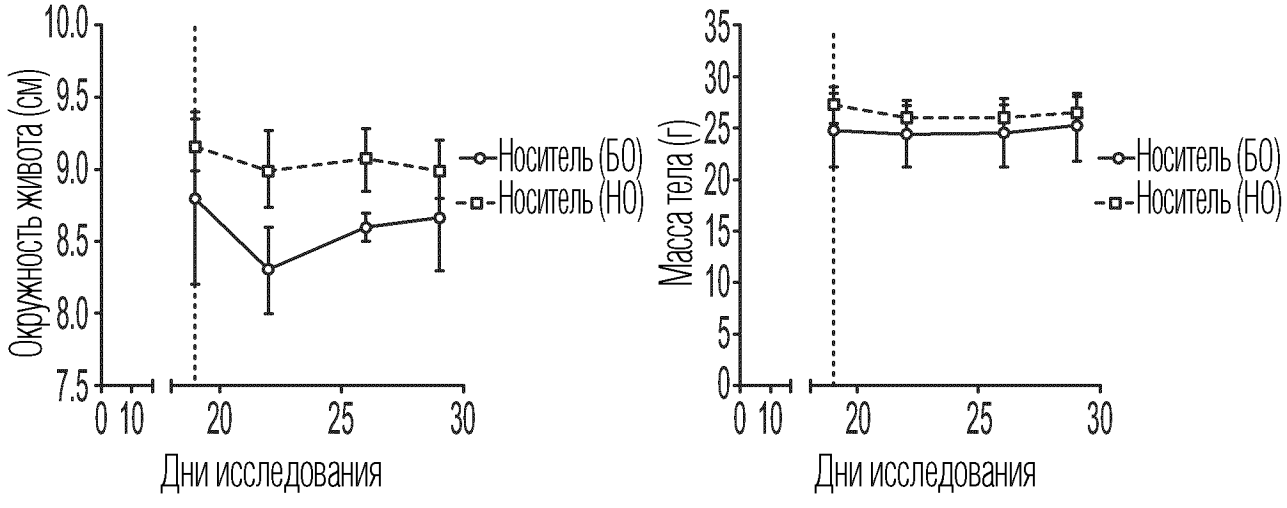
ФИГ. 78


Носитель
Соед. стр. (I)
(60 мг/кг, орд)
Масса тела (г)
Дни
Окружность (см)
Объем восстановленых асцитов (мл/мышь)
Процент выживания
CDDP

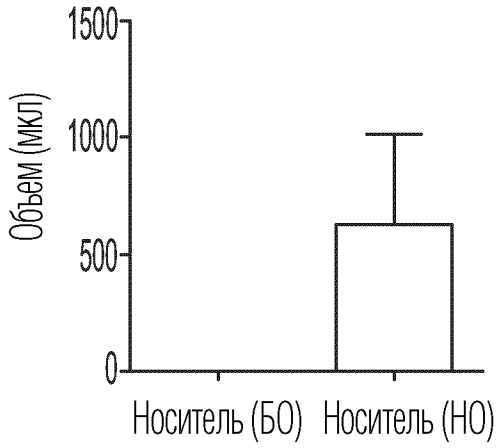
ФИГ. 79


Носитель
Соед. стр. (I)
1
2
3
1
2
3
P-Axl (Y702)
Всего AXL
тубулин
AXLp/AXL
Относительная экспрессия белка
200
150
100
50
0
Носитель
Соед. стр. (I)

ФИГ. 80

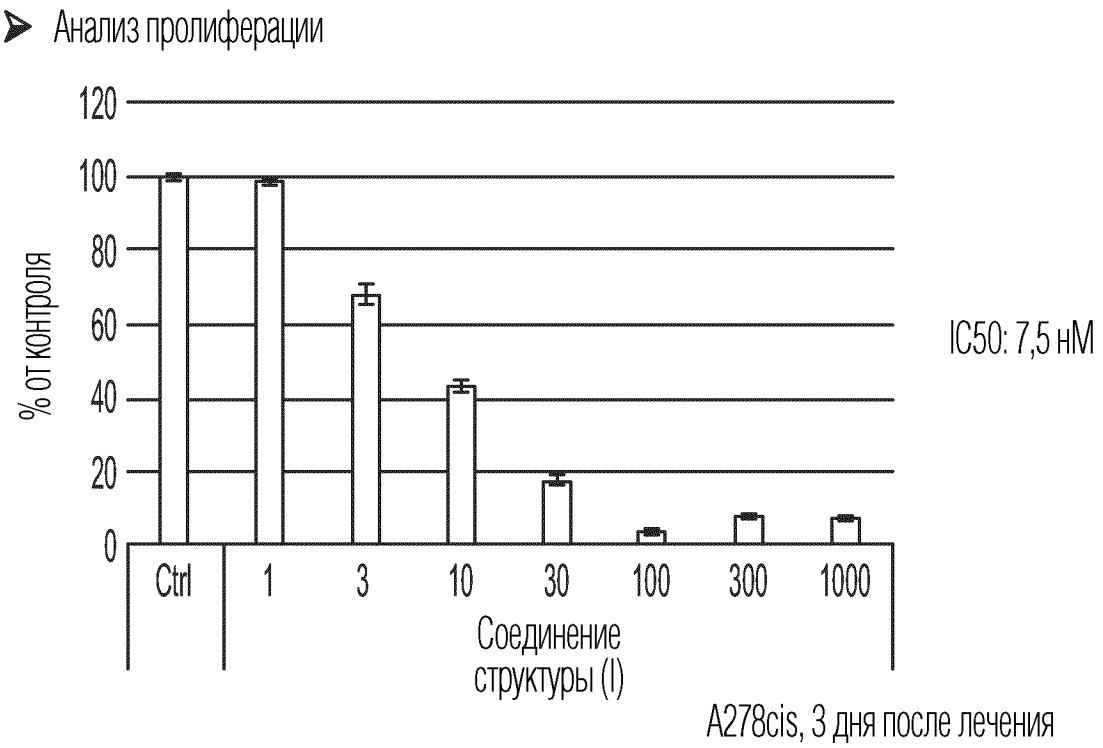

Окружность живота (см)
10.0
9.5
9.0
8.5
8.0
7.5
0 10
20
25
30
Дни исследования
Носитель (БО)
Носитель (НО)
Масса тела (г)
35
30
25
20
15
10
5
0
0 10
20
25
30
Дни исследования
Носитель (БО)
Носитель (НО)

ФИГ. 81

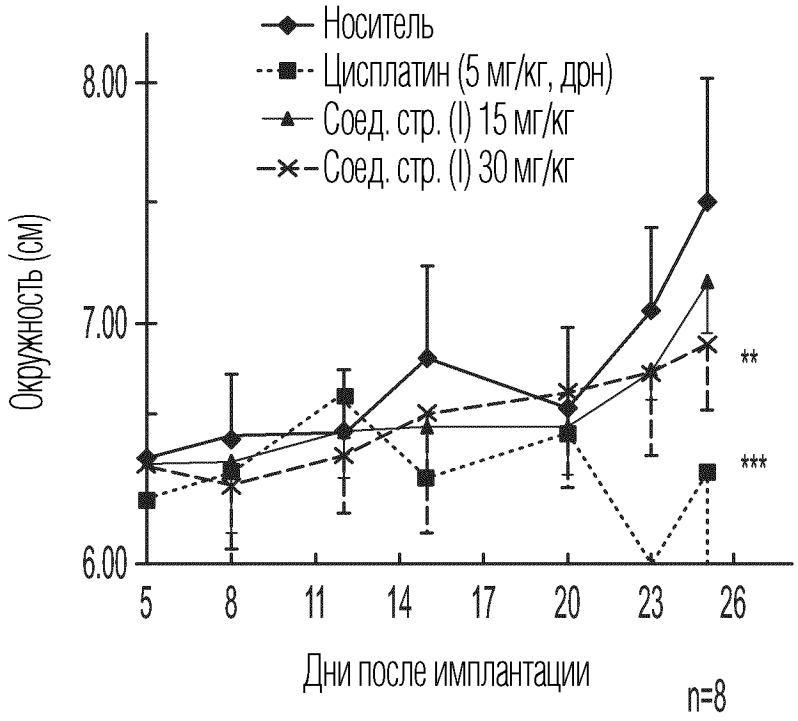

1500
1000
500
0
Объем (мкл)
Носитель (БО)
Носитель (НО)

Без опухоли (БО)
Несущие опухоль (НО)

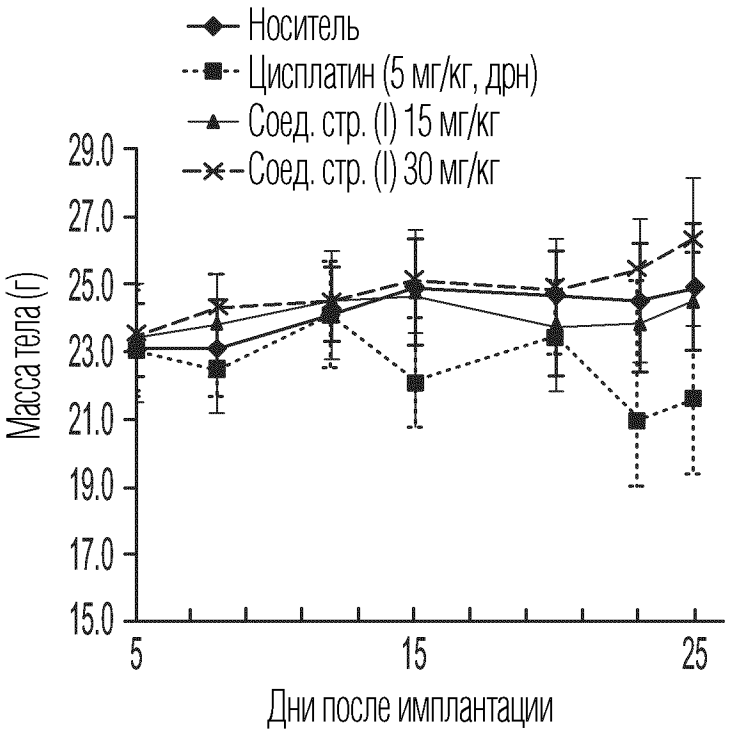
ФИГ. 82


Анализ пролиферации
120
100
80
60
40
20
0
% от контроля
Ctrl
1
3
10
30
100
300
1000
Соединение структуры (I)
IC50: 7,5 нМ
A278cis, 3 дня после лечения

ФИГ. 83


Носитель
Цисплатин (5 мг/кг, дрн)
Соед. стр. (I) 15 мг/кг
Соед. стр. (I) 30 мг/кг
8.00
7.00
6.00
Окружность (см)
5
8
11
14
17
20
23
26
Дни после имплантации
**
***
n=8

ФИГ. 84



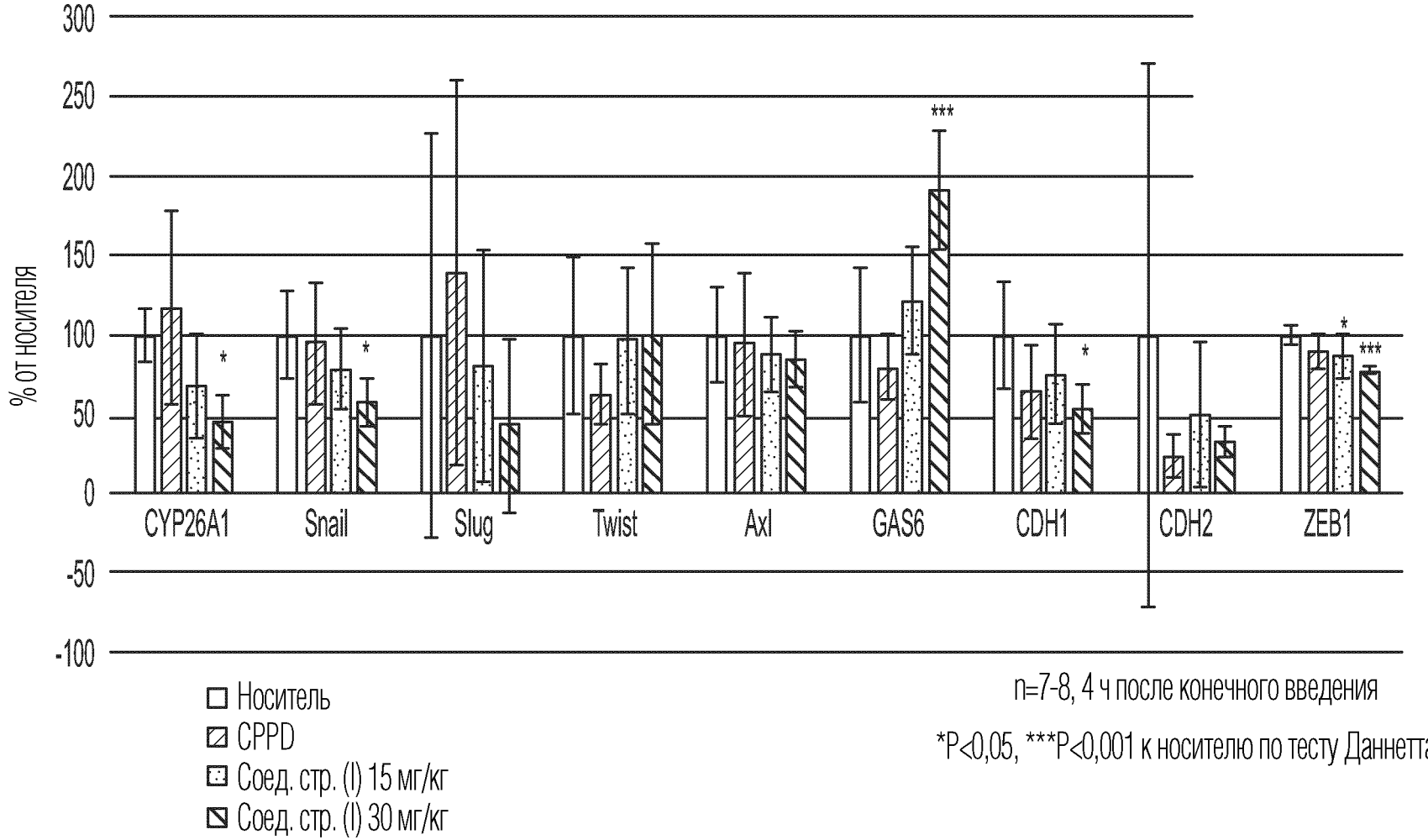
**P<0,01, ***P<0,001 к носителю по тесту Даннетта

ФИГ. 85

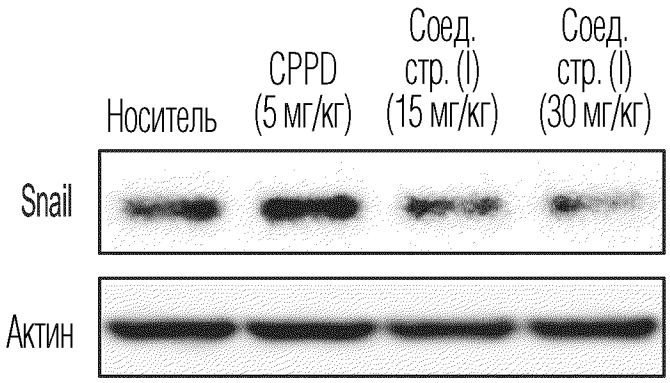
Носитель

Соед. стр. (I) 30 мг/кг

ФИГ. 86

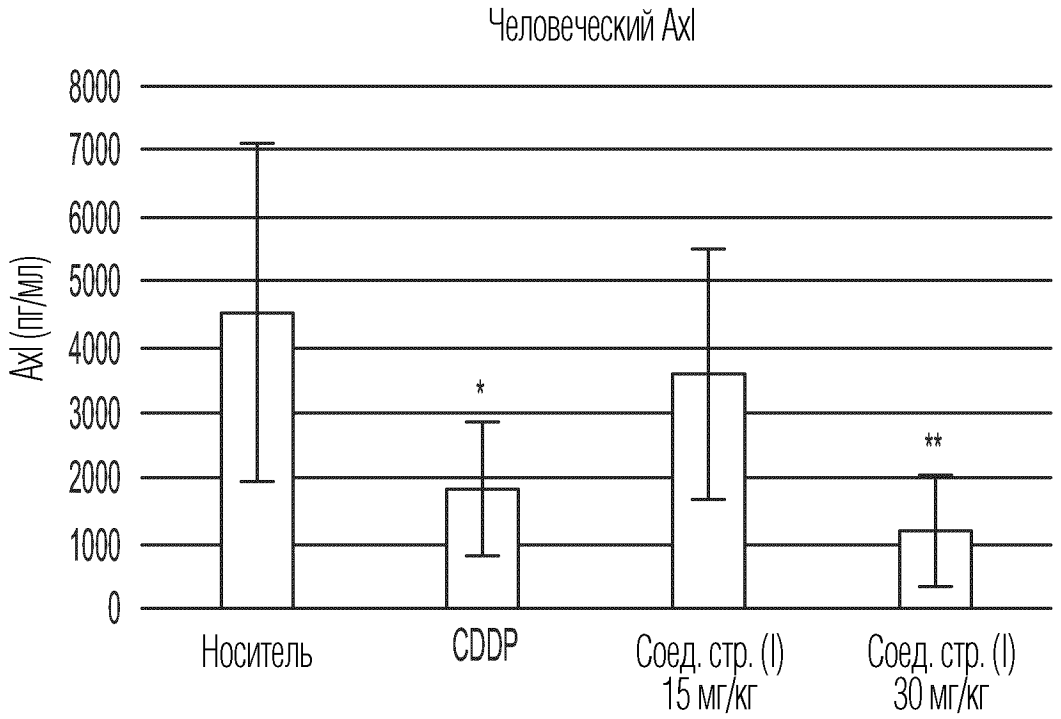

300
250
200
150
100
50
0
-50
-100
% от носителя
CYP26A1
Snail
Slug
Twist
Axl
GAS6
CDH1
CDH2
ZEB1
*
*
***
*
*
***
Носитель
CPPD
Соед. стр. (I) 15 мг/кг
Соед. стр. (I) 30 мг/кг
n=7-8, 4 ч после конечного введения
*P<0,05, ***P<0,001 к носителю по тесту Даннетта

ФИГ. 87



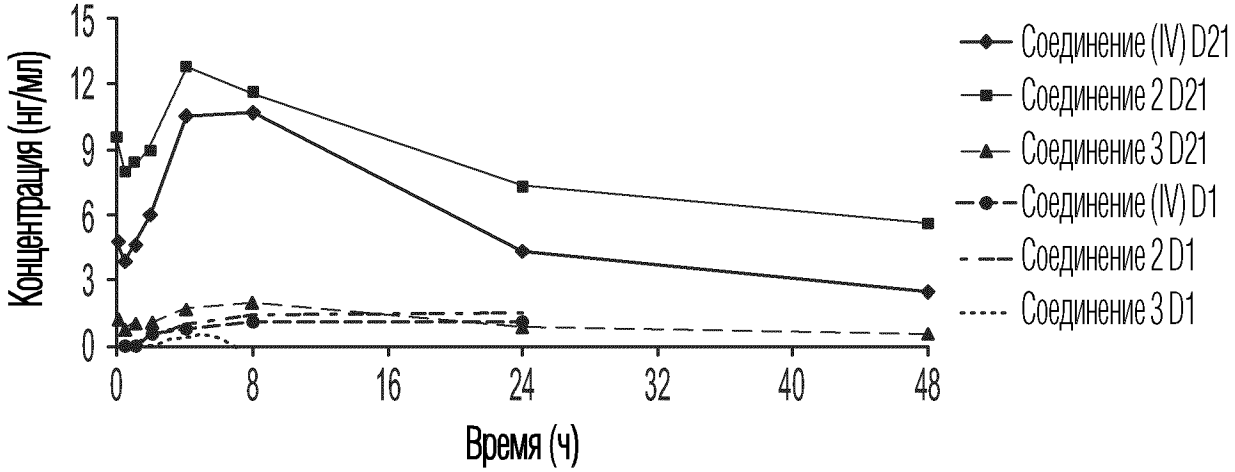
4 ч после конечного введения
Образцы объединяли для каждой группы (n=7-8)

ФИГ. 88

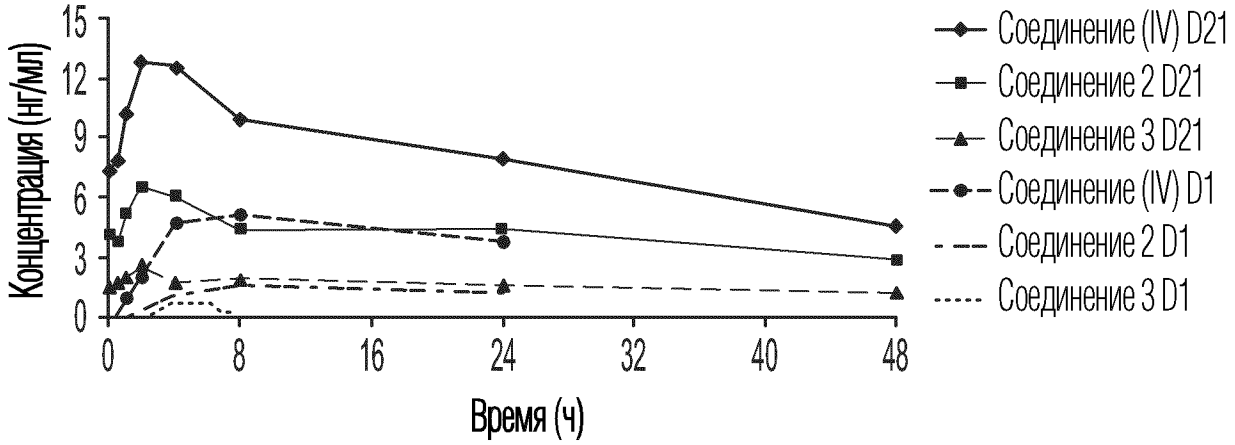


4 ч после конечной обработки
*P<0,05, **P<0,01 к носителю по тесту Даннетта

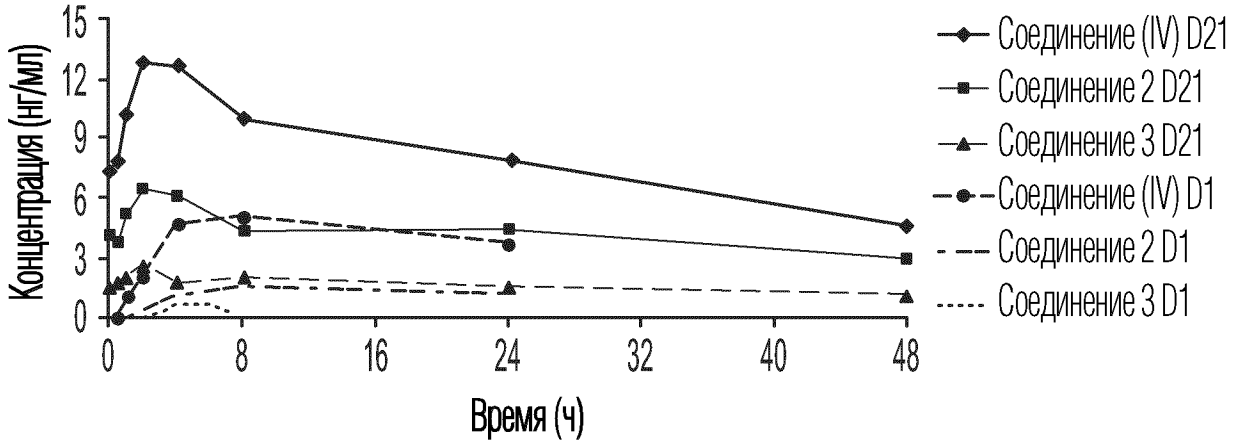
ФИГ. 89



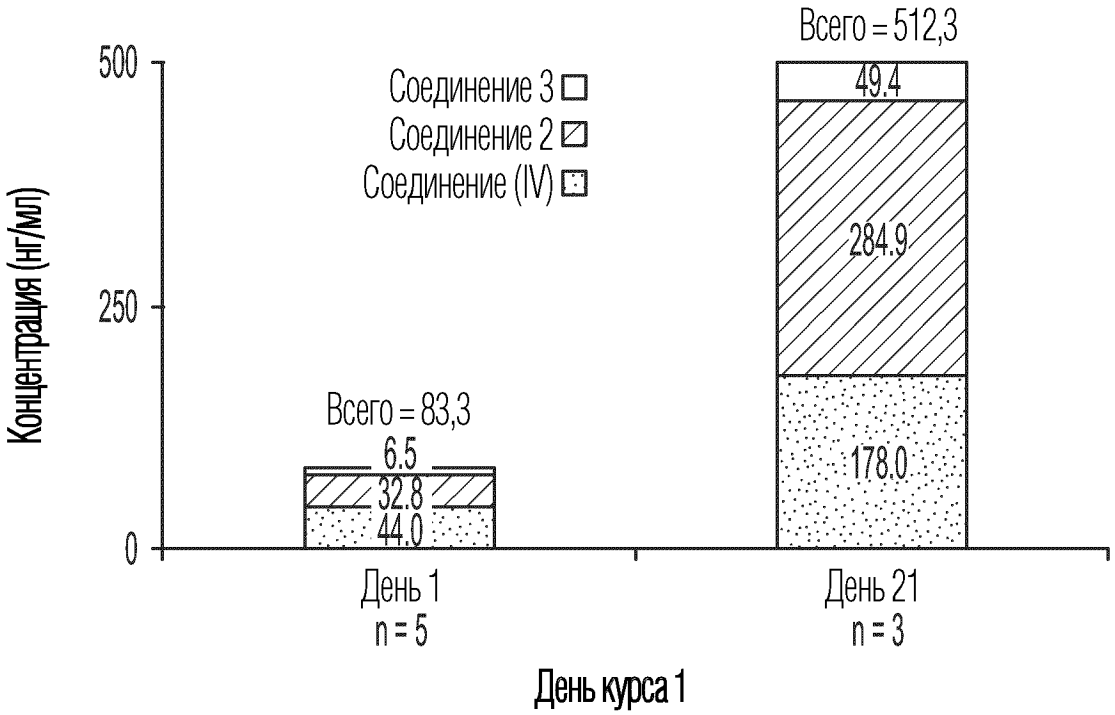
ФИГ. 90



ФИГ. 91



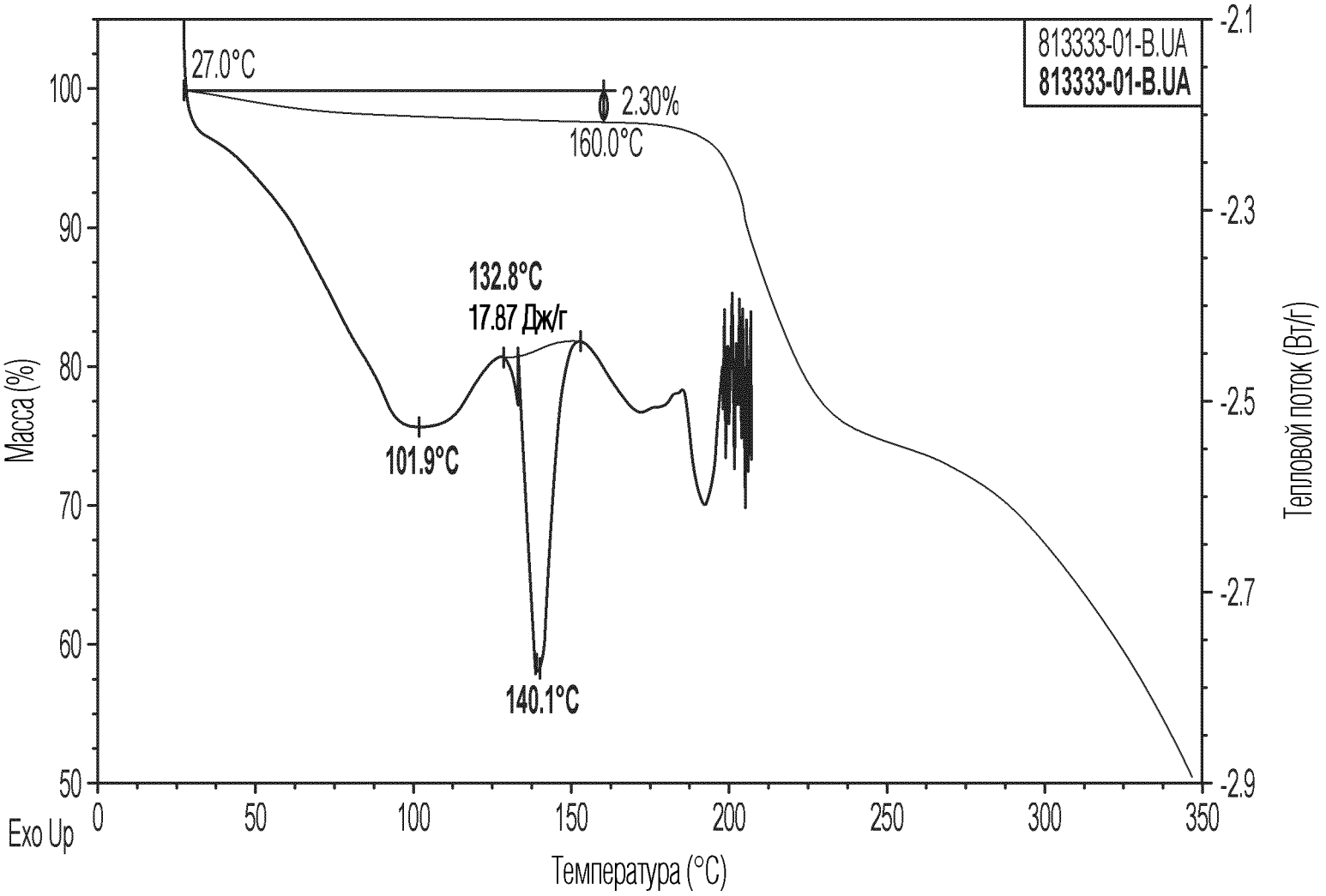
ФИГ. 92


Всего = 512,3
500
Соединение 3
Соединение 2
Соединение (IV)
49.4
284.9
Концентрация (нг/мл)
250
Всего = 83,3
6.5
32.8
44.0
178.0
0
День 1
n = 5
День 21
n = 3
День курса 1

ФИГ. 93

Значение D	Относительная интенсивность	Значение D	Относительная интенсивность
6.850	11.30%	22.447	9.50%
7.031	50.00%	22.690	26.30%
7.492	57.40%	22.775	28.10%
8.163	10.30%	23.217	12.50%
8.677	19.20%	23.584	15.90%
9.500	10.30%	24.227	4.60%
9.884	32.80%	25.058	4.50%
10.300	29.40%	25.617	41.00%
10.744	20.6 %	26.089	9.8 %
11.289	100.00%	26.626	3.9 %
12.440	2.50%	26.984	16.1 %
12.814	11.80%	27.498	19.3 %
13.299	14.10%	27.528	20.8 %
13.731	17.60%	28.258	17.6 %
14.027	3.70%	28.653	9.1 %
14.483	26.90%	29.036	3.2 %
14.638	14.00%	29.517	3.6 %
15.000	15.80%	30.041	4.4 %
15.421	64.00%	30.136	6.1 %
15.744	6.80%	30.560	6.0 %
16.060	8.00%	31.052	13.2 %
16.341	41.70%	31.473	4.3 %
17.093	29.80%	32.064	2.9 %
17.404	37.30%	32.438	6.5 %
17.589	24.60%	33.380	5.3 %
18.323	23.80%	34.574	3.2 %
18.909	25.10%	37.489	3.2 %
18.986	25.30%		
19.328	23.0 %		
19.930	59.00%		
20.194	17.00%		
20.520	24.80%		
20.743	22.00%		
21.241	9.60%		
21.669	26.20%		

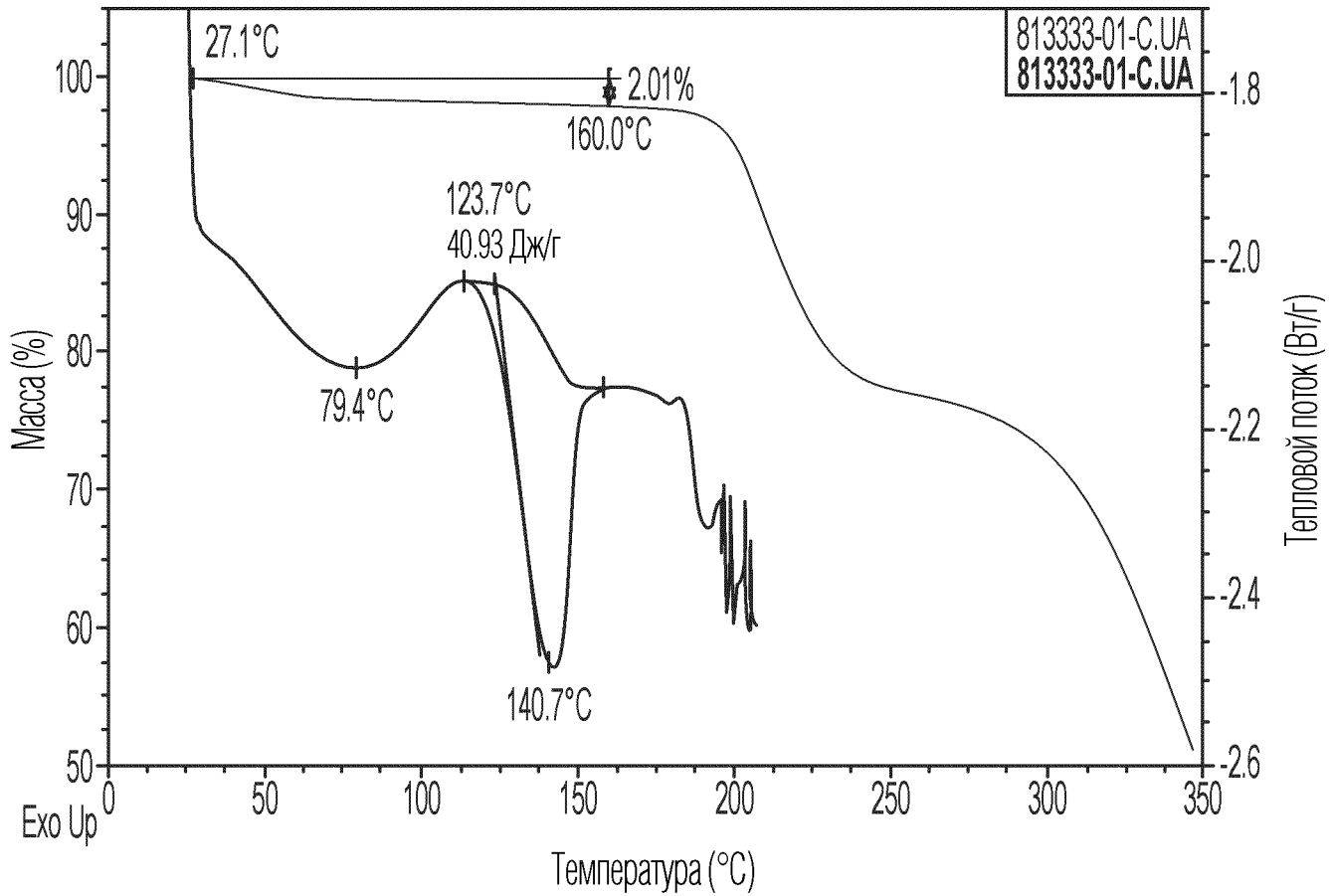
ФИГ. 94


813333-01-B.UA
813333-01-B.UA
27.0°C
2.30%
160.0°C
132.8°C
17.87 Дж/г
101.9°C
140.1°C
Масса (%)
Тепловой поток (Вт/г)
Exo Up
Температура (°C)
100
90
80
70
60
50
-2.1
-2.3
-2.5
-2.7
-2.9
0
50
100
150
200
250
300
350

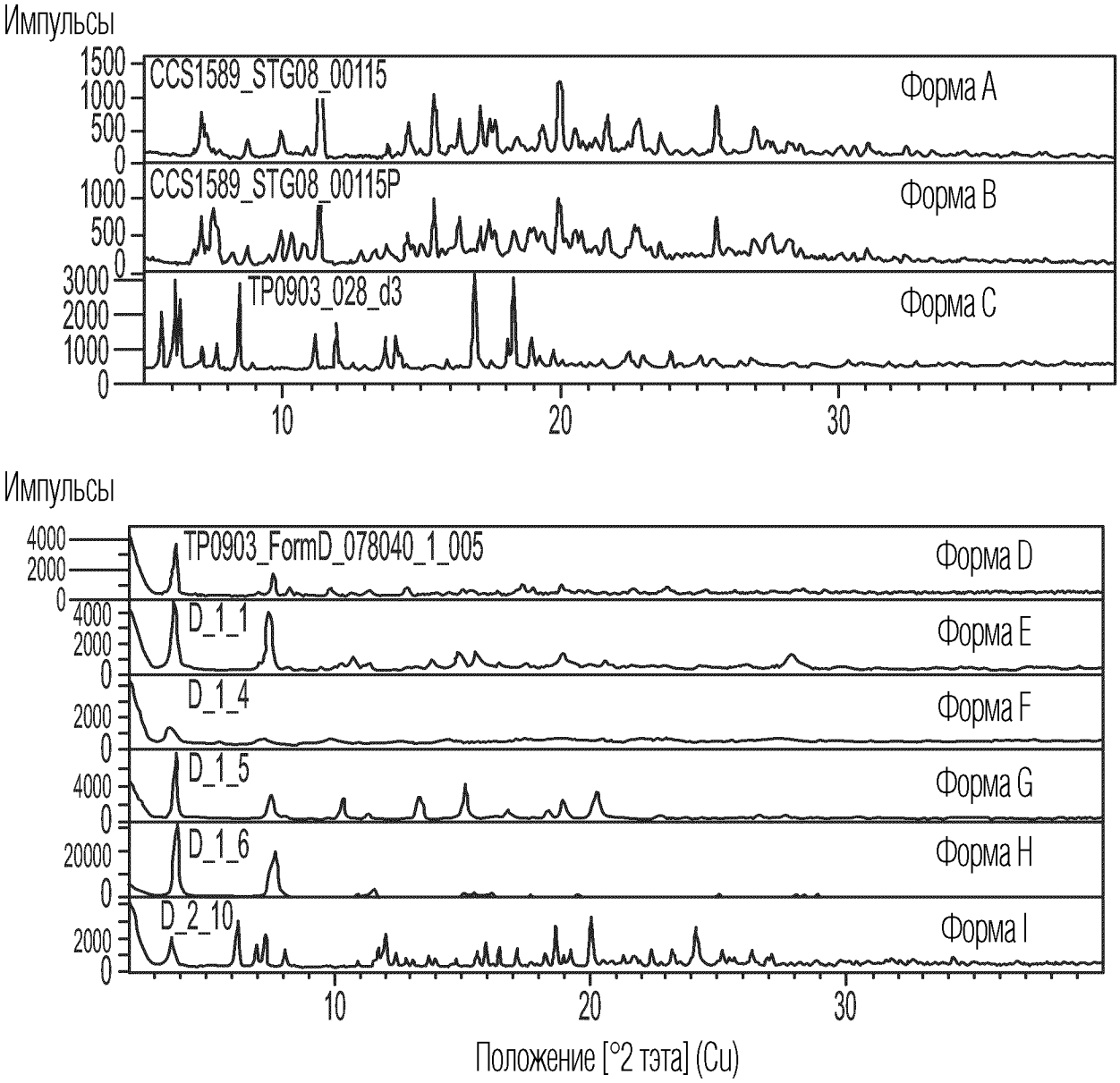
ФИГ. 95

Значение D	Относительная интенсивность
6.823	3.6 %
7.012	19.8 %
7.601	100.0 %
8.243	32.1 %
8.478	7.8 %
8.674	6.1 %
9.827	45.3 %
10.544	5.8 %
10.812	6.2 %
11.320	33.2 %
12.007	7.6 %
12.809	68.7 %
13.726	4.4 %
13.959	11.6 %
14.466	9.2 %
14.987	30.6 %
15.315	16.1 %
15.377	22.1 %
15.762	3.7 %
16.313	12.4 %
17.051	15.3 %
17.378	76.1 %
17.667	37.2 %
18.896	65.4 %
19.428	21.5 %
19.777	9.2 %
19.895	14.3 %
20.511	6.9 %
20.769	5.3 %
21.660	28.0%
22.747	17.9 %

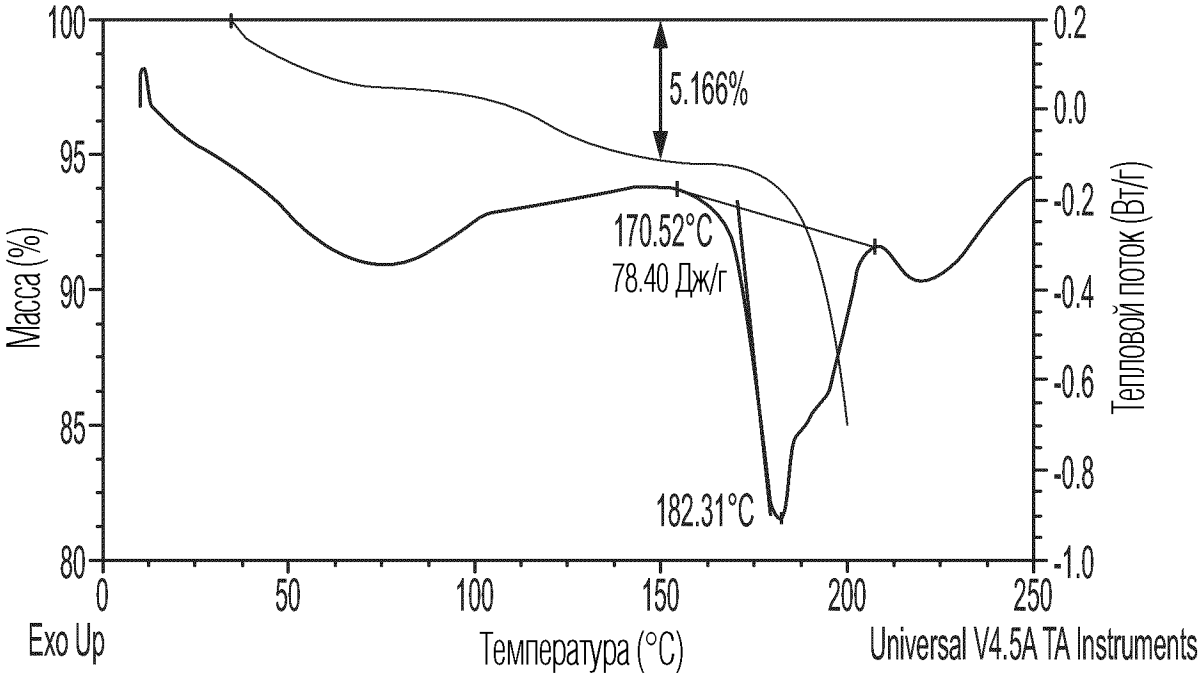
ФИГ. 96


27.1°C
2.01%
160.0°C
123.7°C
40.93 Дж/г
79.4°C
140.7°C
813333-01-C.UA
813333-01-C.UA
Масса (%)
Тепловой поток (Вт/г)
Exo Up
Температура (°C)
100
90
80
70
60
50
-1.8
-2.0
-2.2
-2.4
-2.6
0
50
100
150
200
250
300
350

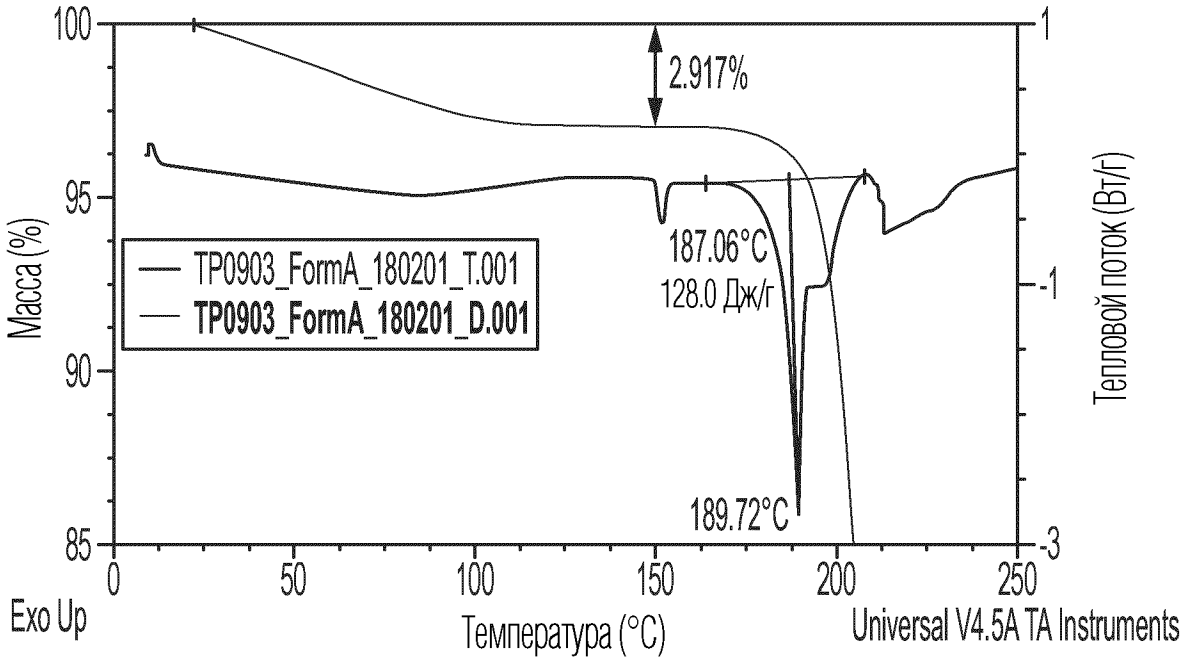
ФИГ. 97


Импульсы
CCS1589_STG08_00115
Форма A
CCS1589_STG08_00115P
Форма B
TP0903_028_d3
Форма C
Импульсы
TP0903_FormD_078040_1_005
Форма D
D_1_1
Форма E
D_1_4
Форма F
D_1_5
Форма G
D_1_6
Форма H
D_2_10
Форма I
Положение [°2 тэта] (Cu)

ФИГ. 98

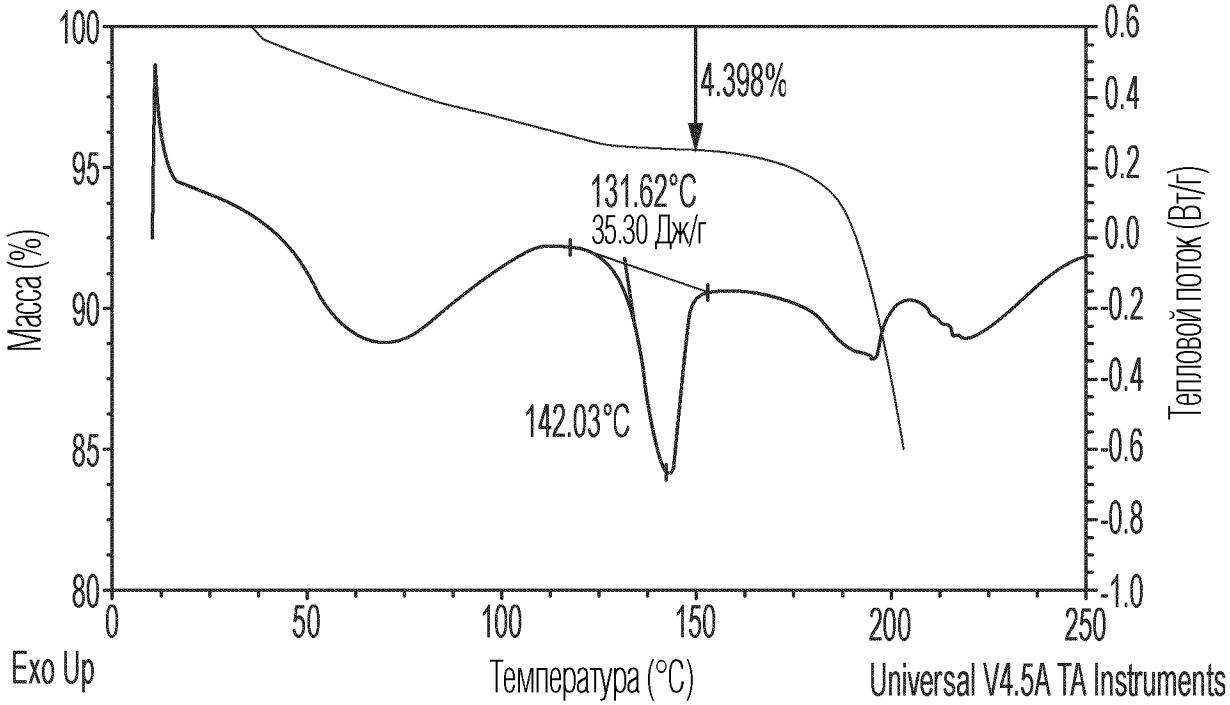


Форма	ДСК пик (°C)	ДСК начало (°C)	ДСК ΔHf (Дж/г)	Изменение массы по ТГА (%)
Форма A'	182.31	170.52	78.40	5.166



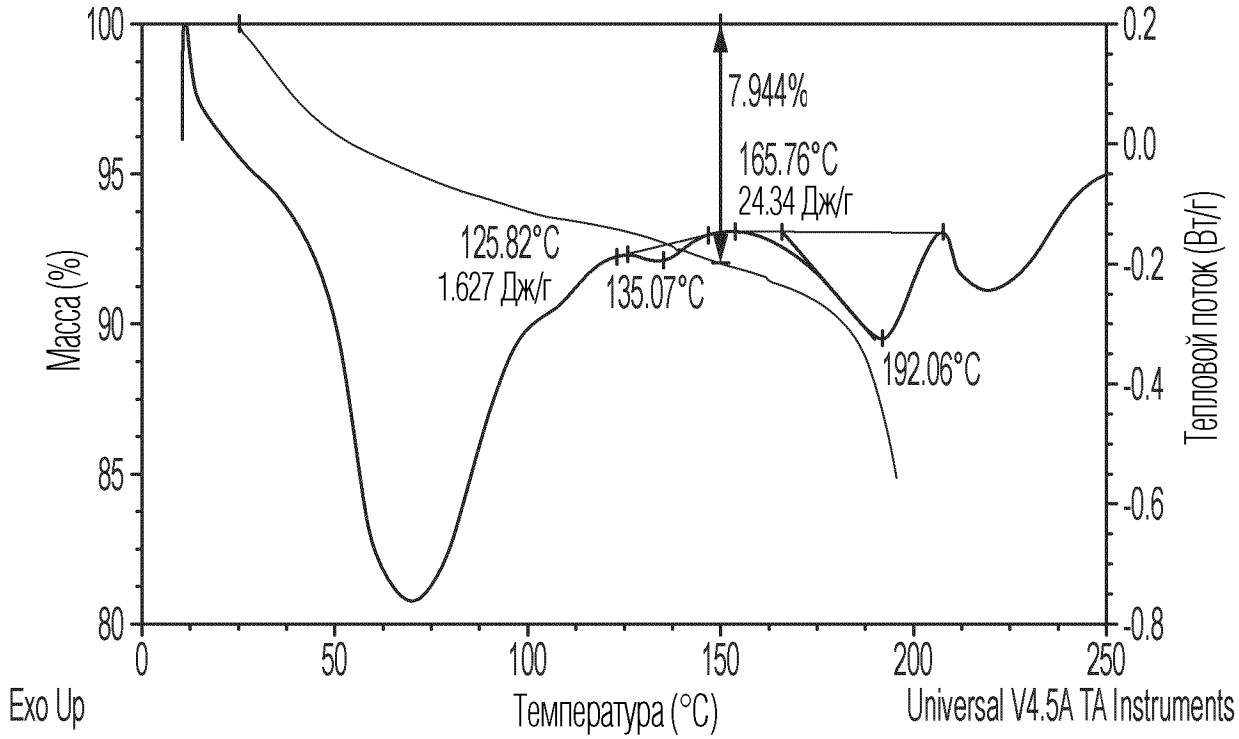
Форма	ДСК пик (°C)	ДСК начало (°C)	ДСК ΔHf (Дж/г)	Изменение массы по ТГА (%)
Форма A'	189.72	187.06	128.0	2.917

ФИГ. 99A



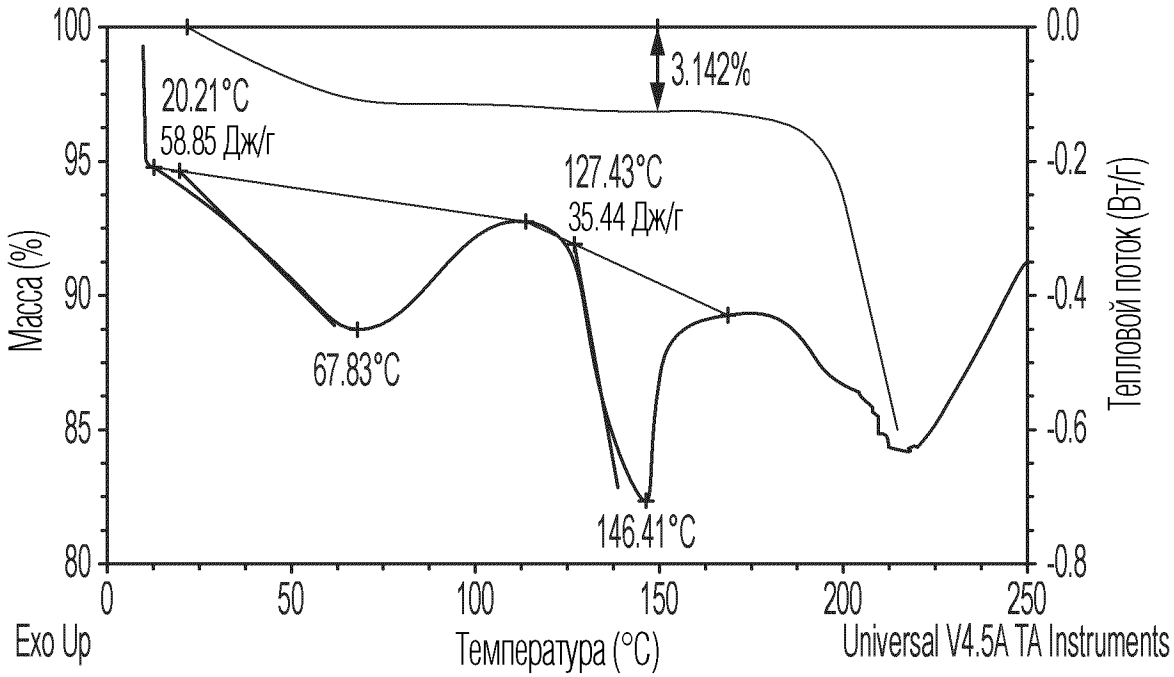
Форма	ДСК пик (°C)	ДСК начало (°C)	ДСК ΔHf (Дж/г)	Изменение массы по ТГА (%)
Форма B	142.03	131.62	35.30	4.398

ФИГ. 99B



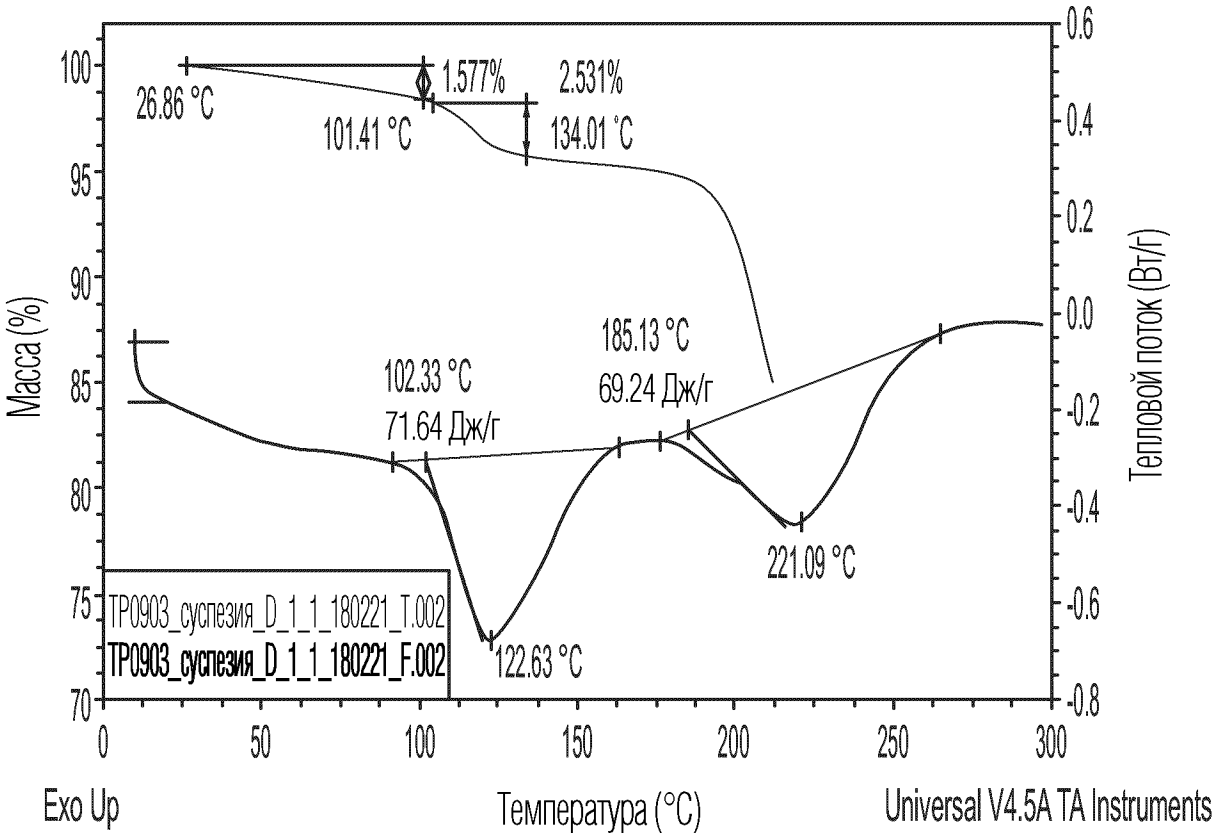
Форма	ДСК пик (°C)	ДСК начало (°C)	ДСК ΔHf (Дж/г)	Изменение массы по ТГА (%)
Форма C	192.06	165.76	24.34	7.944

ФИГ. 99C



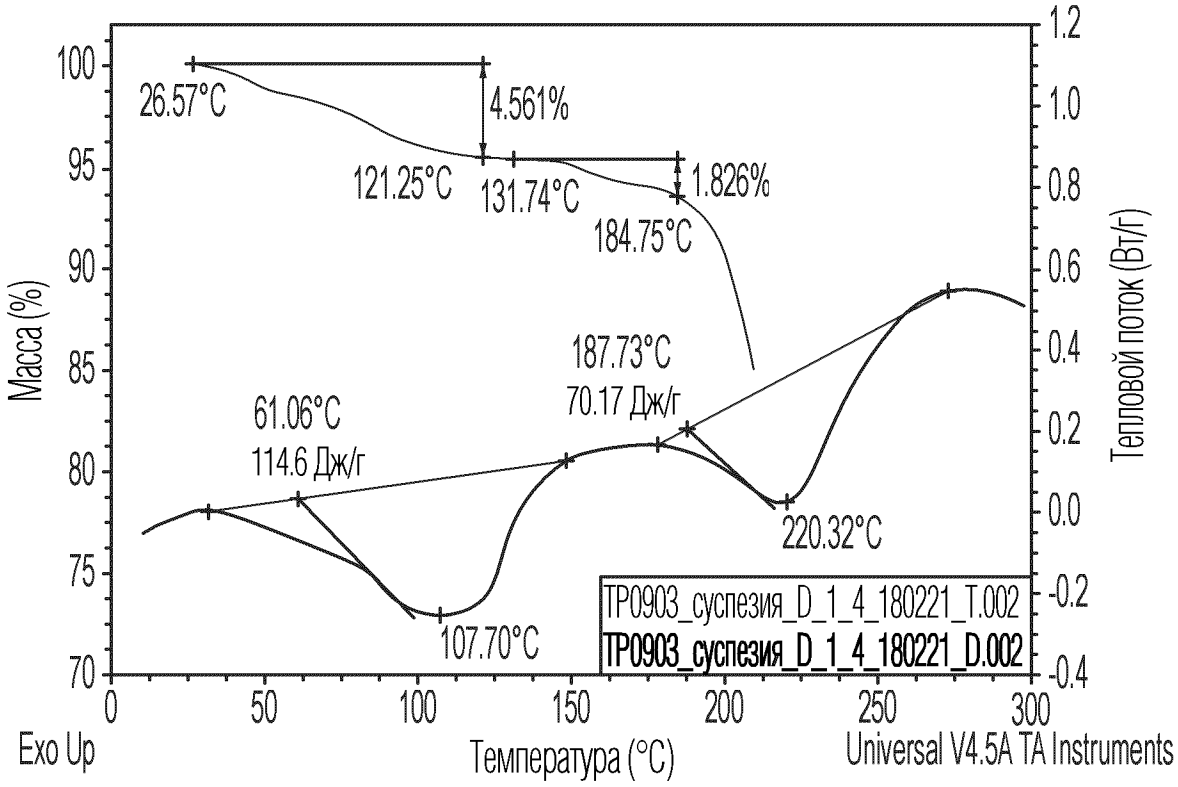
Форма	ДСК пик (°C)	ДСК начало (°C)	ДСК ΔHf (Дж/г)	Изменение массы по ТГА (%)
Форма D	146.41	127.43	35.44	3.142

ФИГ. 99D



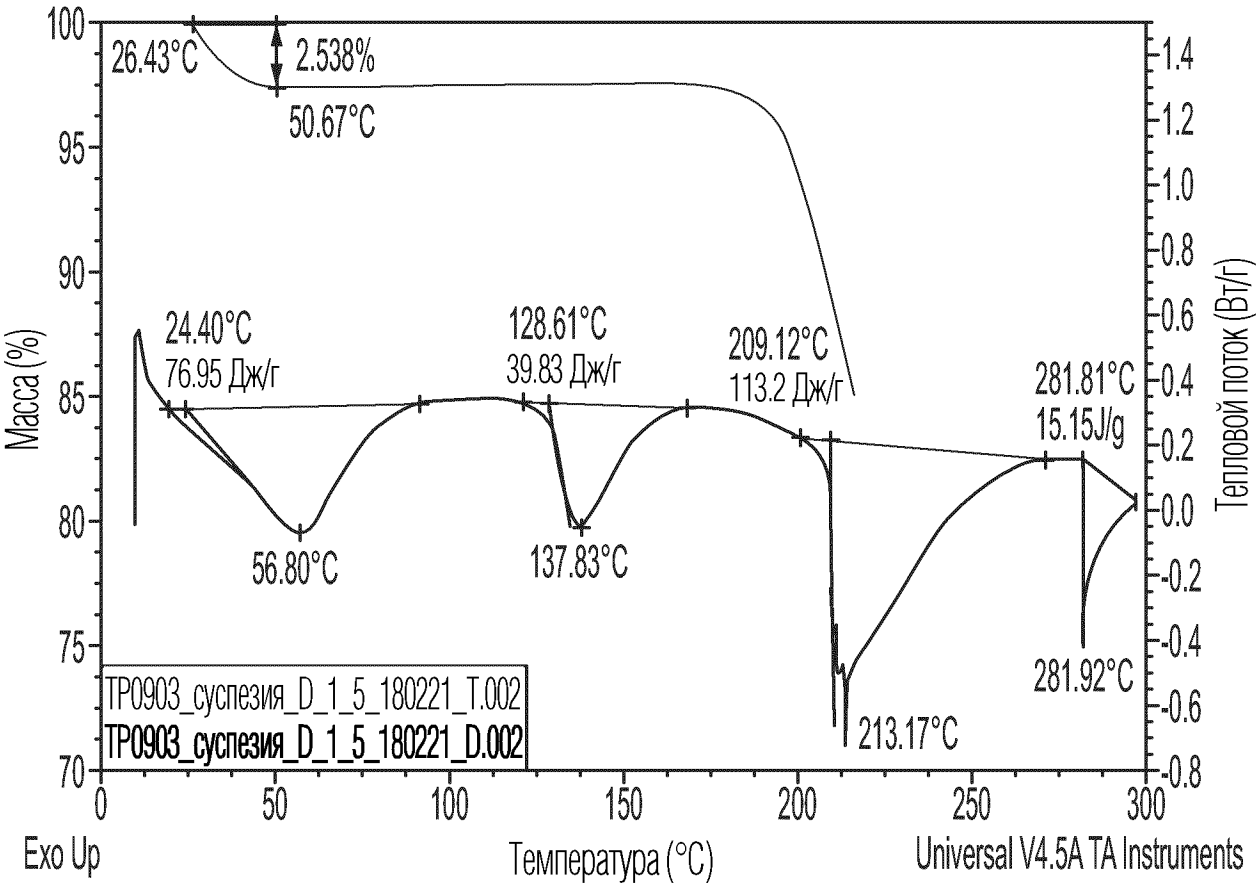
Форма	ДСК пик (°C)	ДСК начало (°C)	ДСК ΔHf (Дж/г)	Изменение массы по ТГА (%)
Форма E	122.63	102.33	71.64	4.108

ФИГ. 99E



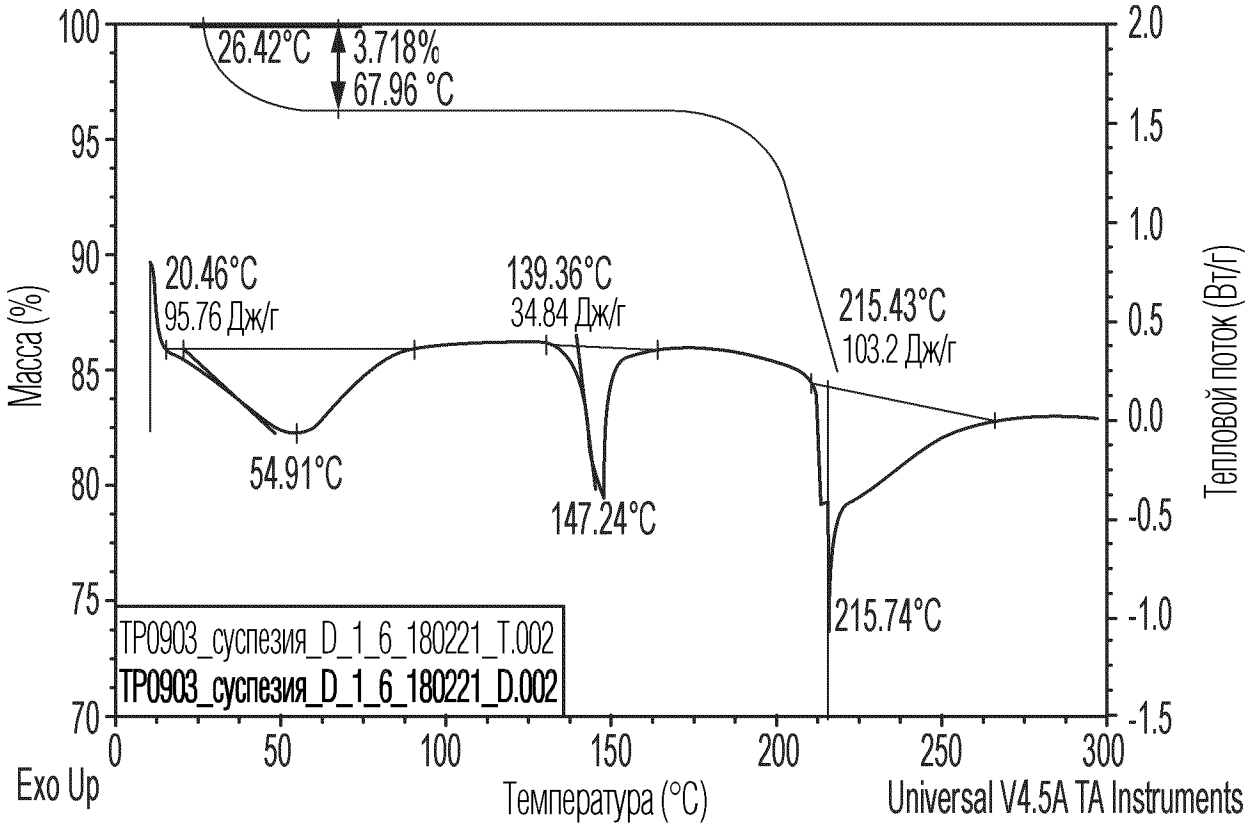
Форма	ДСК пик (°C)	ДСК начало (°C)	ДСК ΔHf (Дж/г)	Изменение массы по ТГА (%)
Форма F	107.70	61.06	114.6	4.561

ФИГ. 99F



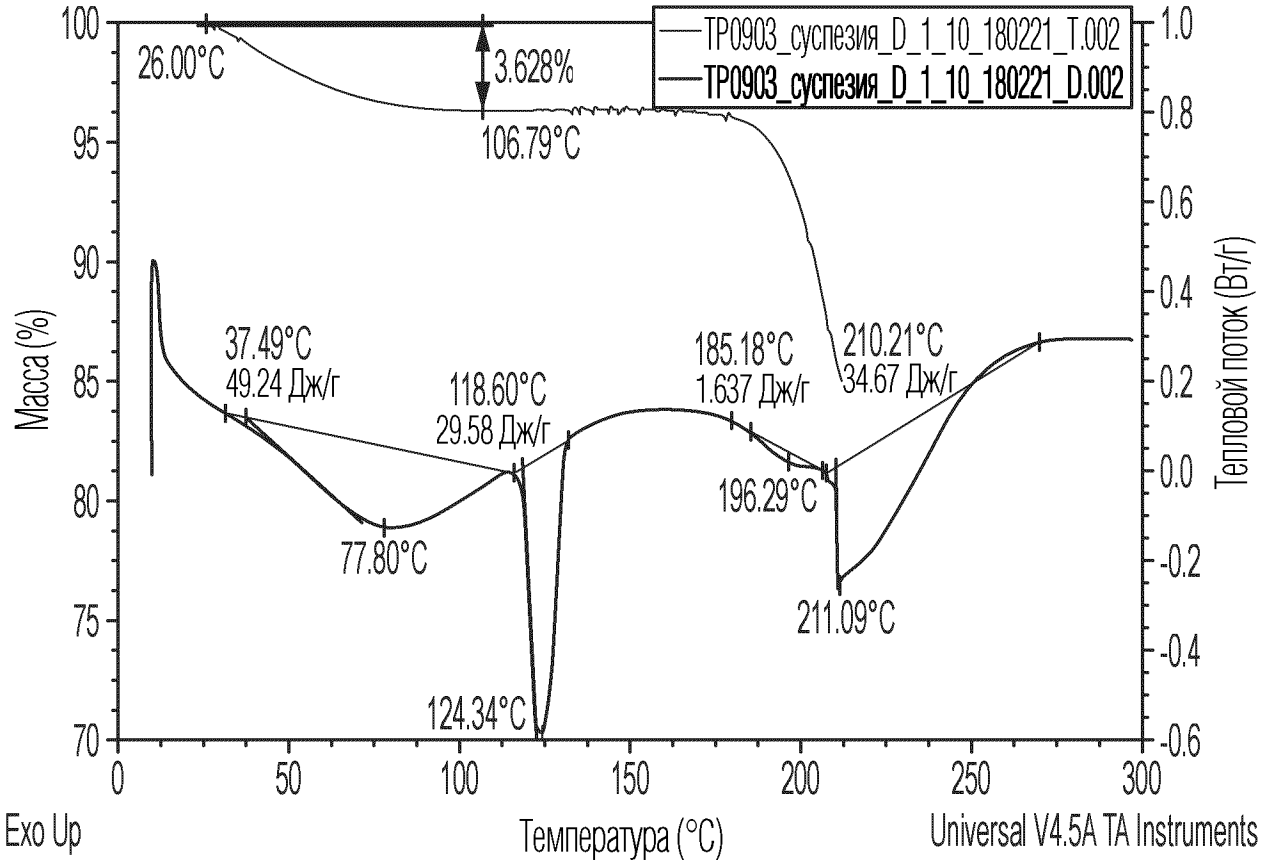
Форма	ДСК пик (°C)	ДСК начало (°C)	ДСК ΔHf (Дж/г)	Изменение массы по ТГА (%)
Форма G	137.83	128.61	39.83	2.538

ФИГ. 99G



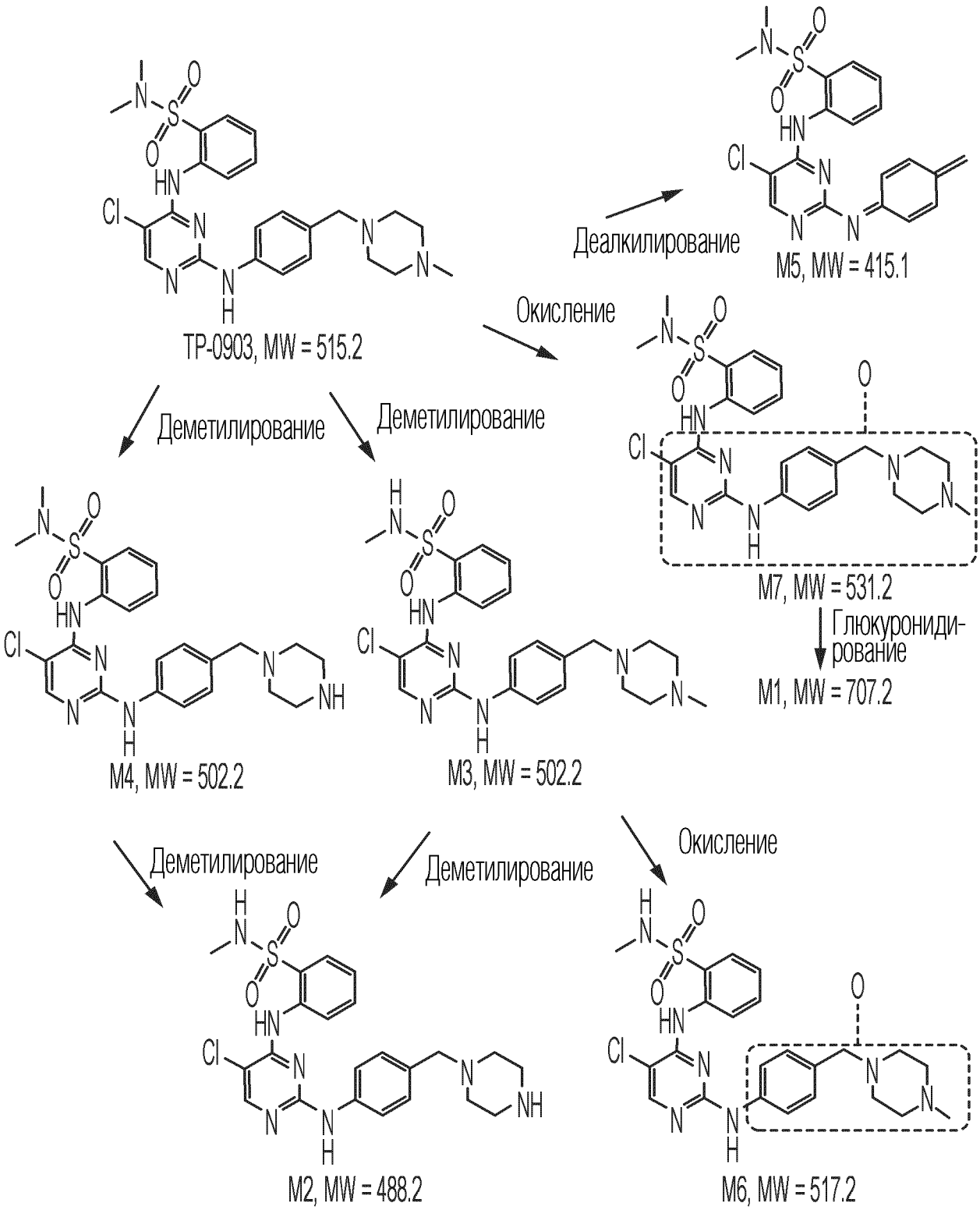
Форма	ДСК пик (°C)	ДСК начало (°C)	ДСК ΔHf (Дж/г)	Изменение массы по ТГА (%)
Форма H	147.42	139.36	34.84	3.718

ФИГ. 99H

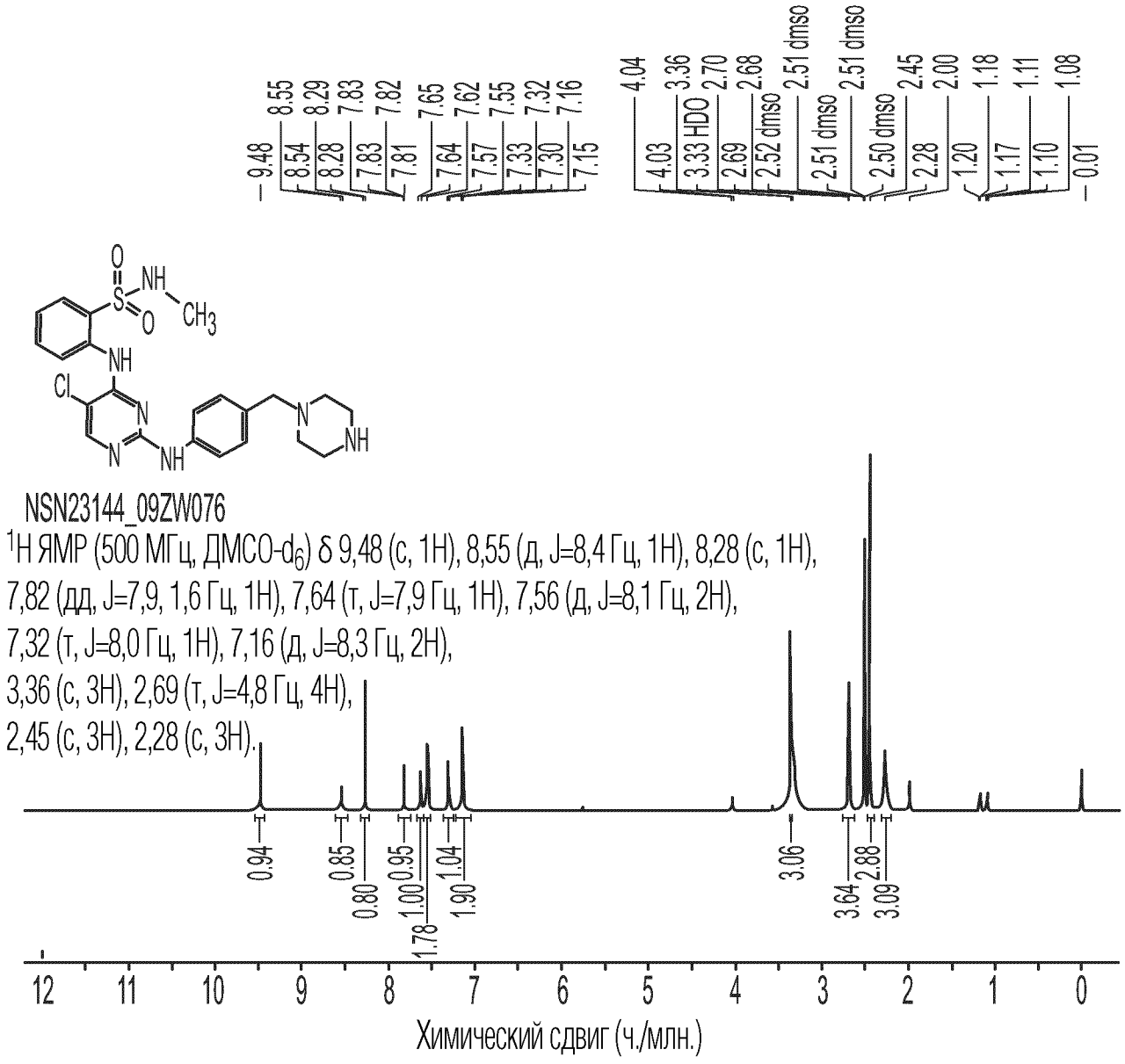


Форма	ДСК пик (°C)	ДСК начало (°C)	ДСК ΔHf (Дж/г)	Изменение массы по ТГА (%)
Форма I	124.34	118.60	29.58	3.628

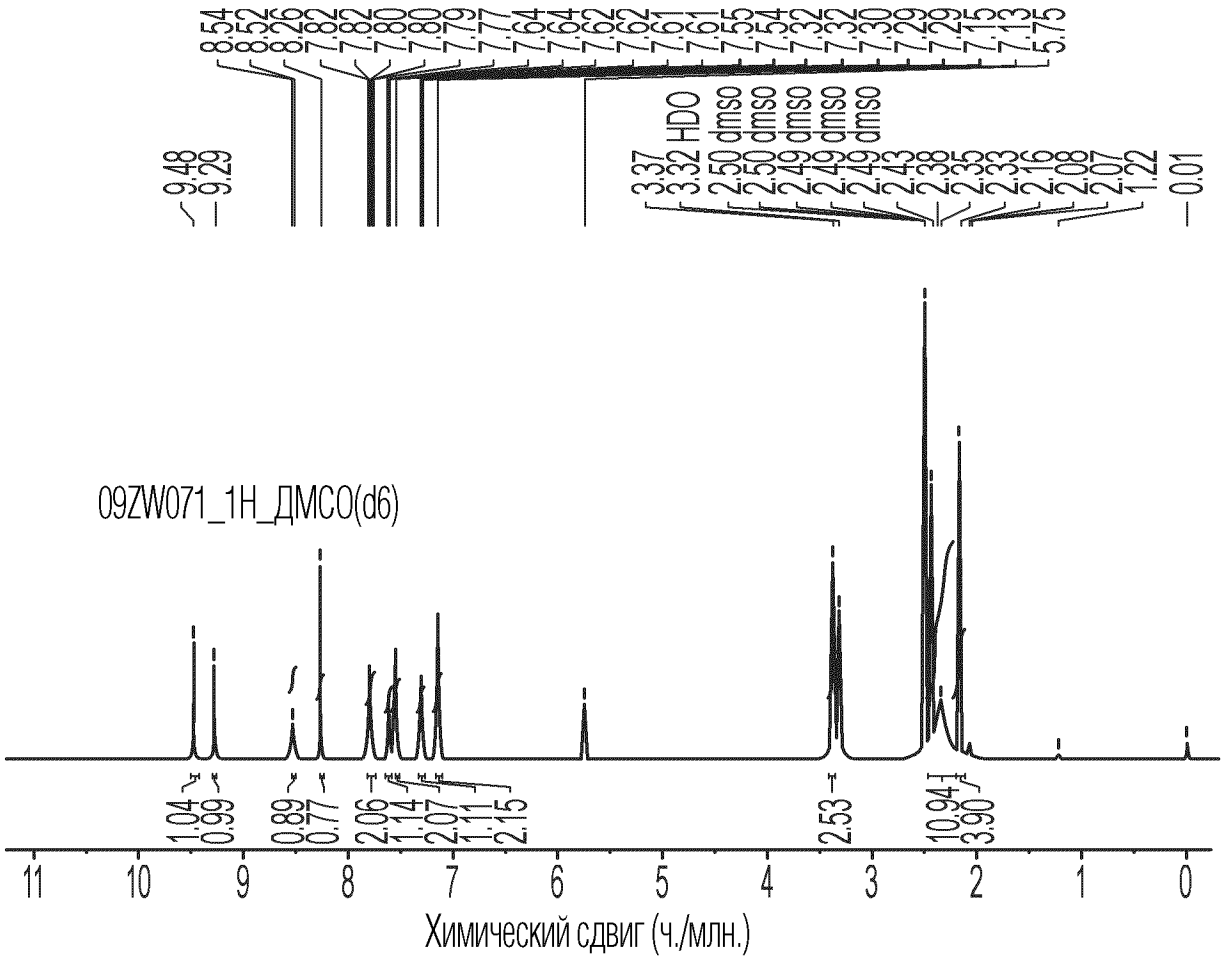
ФИГ. 99I


TP-0903, MW = 515.2
Деалкилирование
M5, MW = 415.1
Окисление
M7, MW = 531.2
Глюкуронидирование
M1, MW = 707.2
Деметилирование
Деметилирование
M4, MW = 502.2
M3, MW = 502.2
Деметилирование
Деметилирование
Окисление
M2, MW = 488.2
M6, MW = 517.2

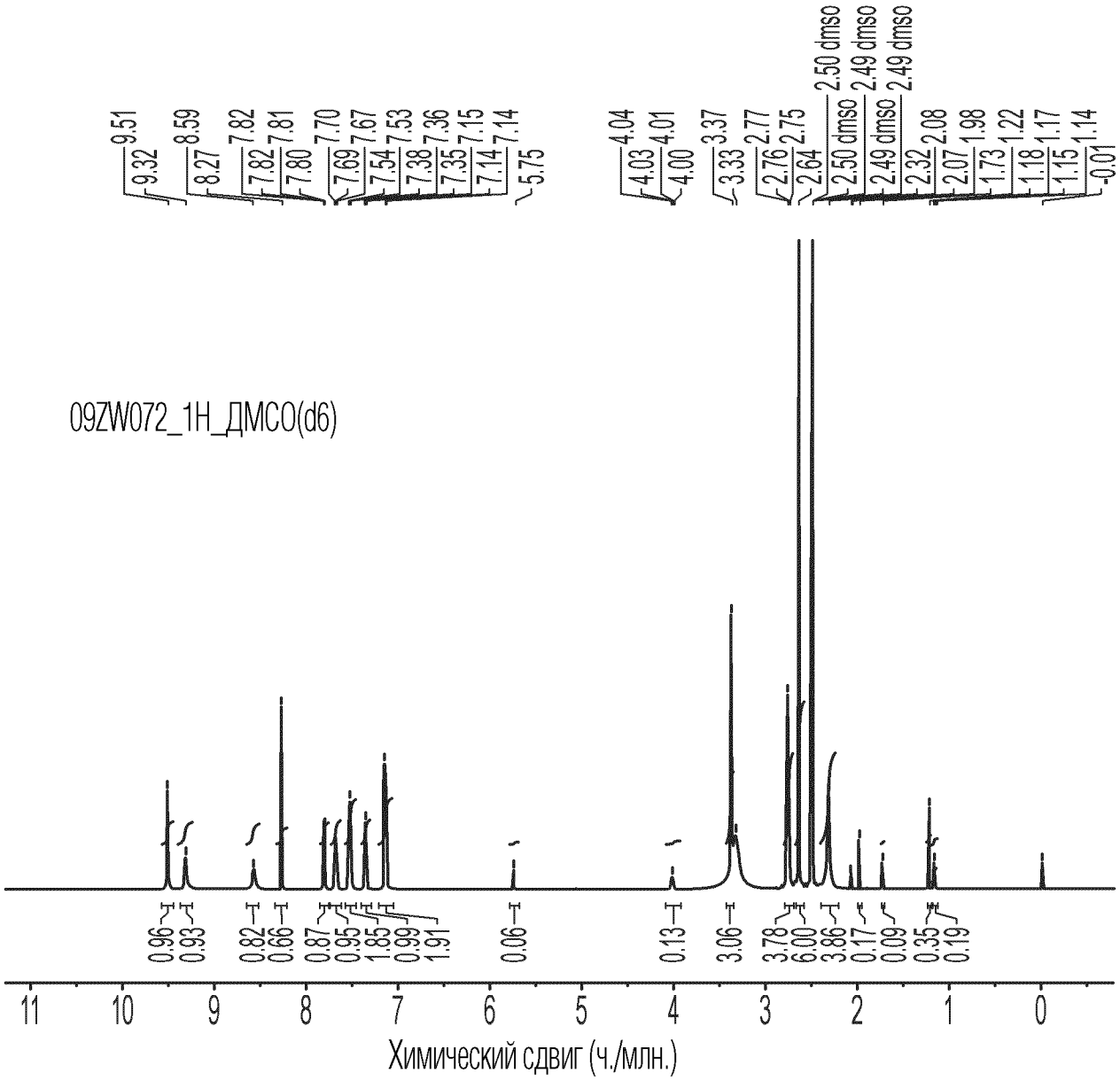
ФИГ. 100


9.48
8.55
8.54
8.29
8.28
8.83
7.83
7.82
7.81
7.65
7.64
7.62
7.57
7.55
7.33
7.32
7.30
7.16
7.15
4.04
4.03
3.36
3.33 HDO
2.70
2.69
2.68
2.52 dmso
2.51 dmso
2.51 dmso
2.51 dmso
2.50 dmso
2.45
2.28
2.00
1.20
1.18
1.17
1.11
1.10
1.08
0.01
NSN23144_09ZW076
1H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d6) δ 9,48 (с, 1H), 8,55 (д, J=8,4 Гц, 1H), 8,28 (с, 1H),
7,82 (дд, J=7,9, 1,6 Гц, 1H), 7,64 (т, J=7,9 Гц, 1H), 7,56 (д, J=8,1 Гц, 2H),
7,32 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,16 (д, J=8,3 Гц, 2H),
3,36 (с, 3H), 2,69 (т, J=4,8 Гц, 4H),
2,45 (с, 3H), 2,28 (с, 3H).
0.94
0.85
0.80
0.95
1.00
1.78
1.04
1.90
3.06
3.64
2.88
3.09
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
Химический сдвиг (ч./млн.)

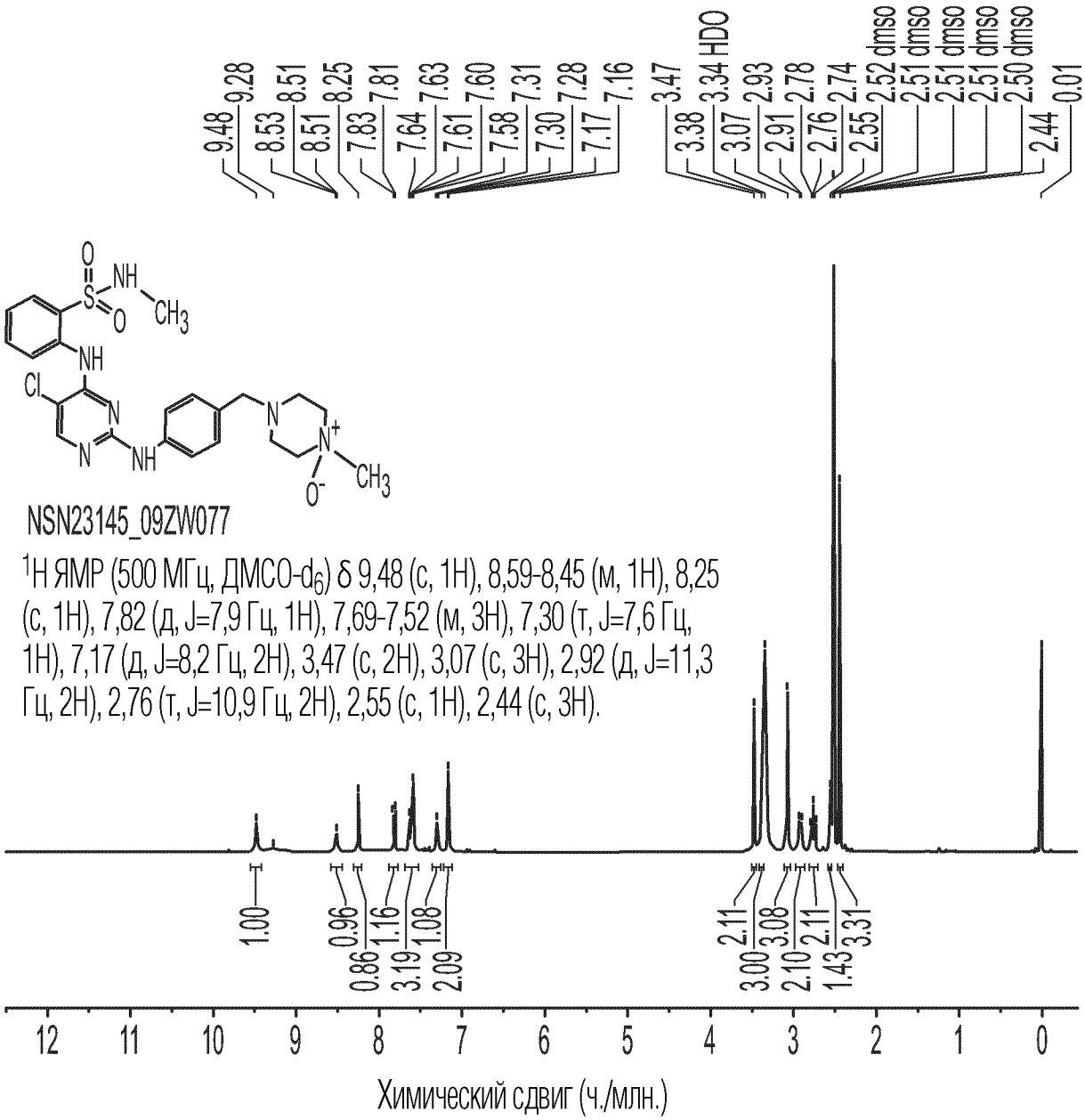
ФИГ. 101А


8.54
8.52
8.26
7.82
7.80
7.80
7.79
7.77
7.64
7.64
7.62
7.62
7.61
7.61
7.55
7.54
7.32
7.30
7.29
7.25
7.15
7.13
5.75
9.48
9.29
3.37
3.32 HDO
2.50 dmso
2.50 dmso
2.49 dmso
2.49 dmso
2.43
2.38
2.35
2.33
2.16
2.08
2.07
1.22
0.01
09ZW071_1H_ДМСО(d6)
1.04
0.99
0.89
0.77
2.06
1.14
2.07
1.11
2.15
2.53
10.94
3.90
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
Химический сдвиг (ч./млн.)

ФИГ. 101B

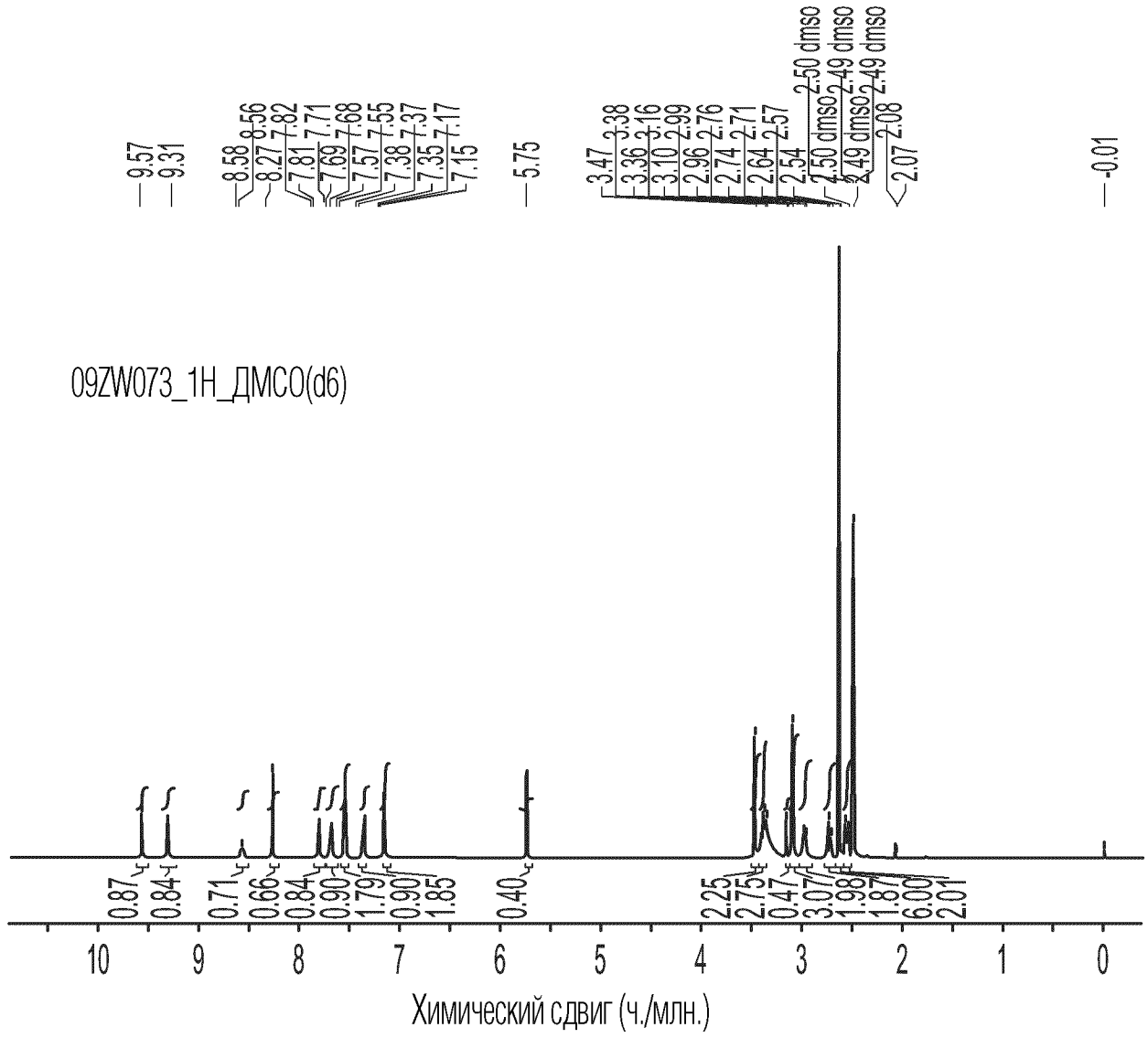

09ZW072_1H_ДМСО(d6)
9.51
9.32
8.59
8.27
7.82
7.82
7.81
7.80
7.70
7.69
7.67
7.54
7.53
7.38
7.36
7.35
7.15
7.14
7.14
5.75
4.04
4.03
4.01
4.00
3.37
3.33
2.77
2.76
2.75
2.64
2.50 dmso
2.50 dmso
2.49 dmso
2.49 dmso
2.32
2.08
2.07
1.98
1.73
1.22
1.18
1.17
1.15
1.14
-0.01
0.96
0.93
0.82
0.66
0.87
0.95
1.85
0.99
1.91
0.06
0.13
3.06
3.78
6.00
3.86
0.17
0.09
0.35
0.19
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
Химический сдвиг (ч./млн.)

ФИГ. 101C

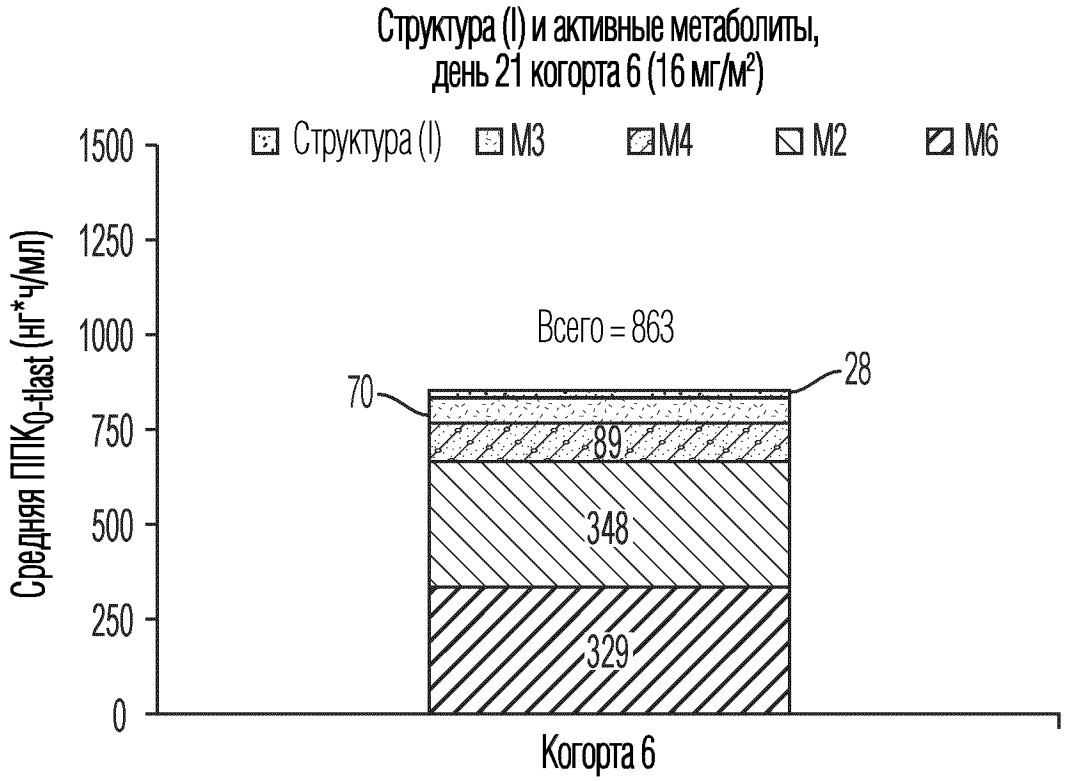


^{1}H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d_6) δ 9,48 (с, 1H), 8,59-8,45 (м, 1H), 8,25 (с, 1H), 7,82 (д, J=7,9 Гц, 1H), 7,69-7,52 (м, 3H), 7,30 (т, J=7,6 Гц, 1H), 7,17 (д, J=8,2 Гц, 2H), 3,47 (с, 2H), 3,07 (с, 3H), 2,92 (д, J=11,3 Гц, 2H), 2,76 (т, J=10,9 Гц, 2H), 2,55 (с, 1H), 2,44 (с, 3H).

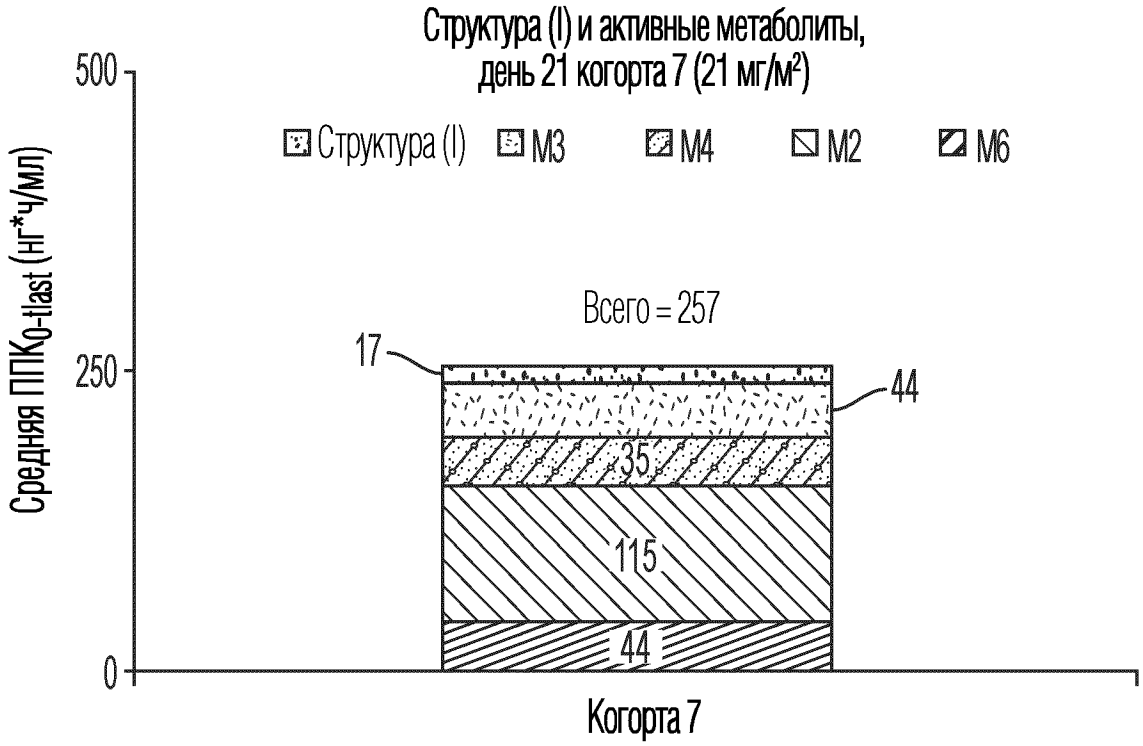
ФИГ. 101D


09ZW073_1H_ДМСО(d6)
9.57
9.31
8.58
8.56
8.27
7.82
7.81
7.71
7.69
7.68
7.57
7.55
7.38
7.37
7.35
7.17
7.15
5.75
3.47
3.38
3.36
3.16
3.10
2.99
2.96
2.76
2.74
2.71
2.64
2.57
2.54
2.50 dmso
2.50 dmso
2.49 dmso
2.49 dmso
2.07
2.08
-0.01
0.87
0.84
0.71
0.66
0.84
0.90
1.79
0.90
1.85
0.40
2.25
2.75
0.47
3.07
1.98
1.87
6.00
2.01
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
Химический сдвиг (ч./млн.)

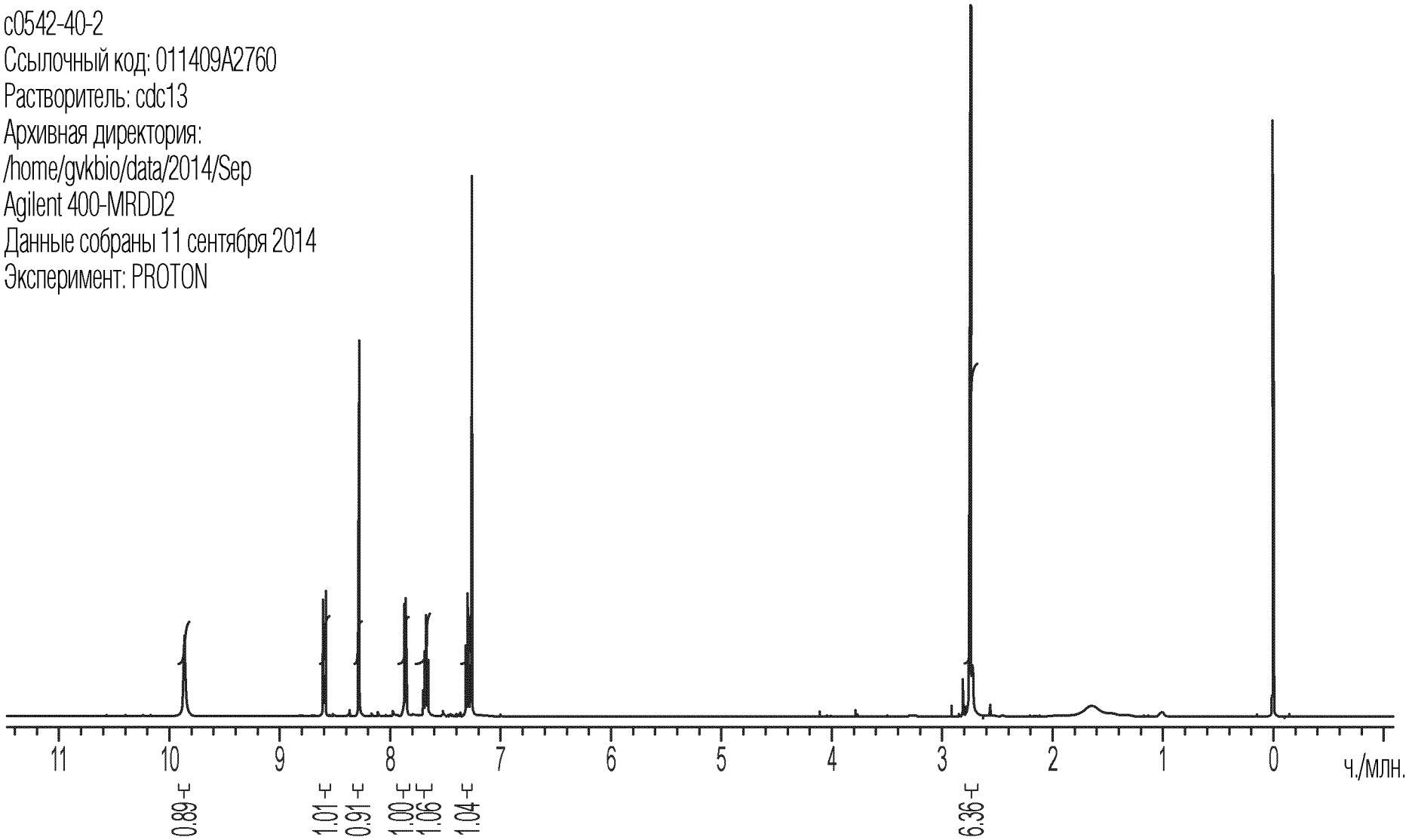
ФИГ. 101E



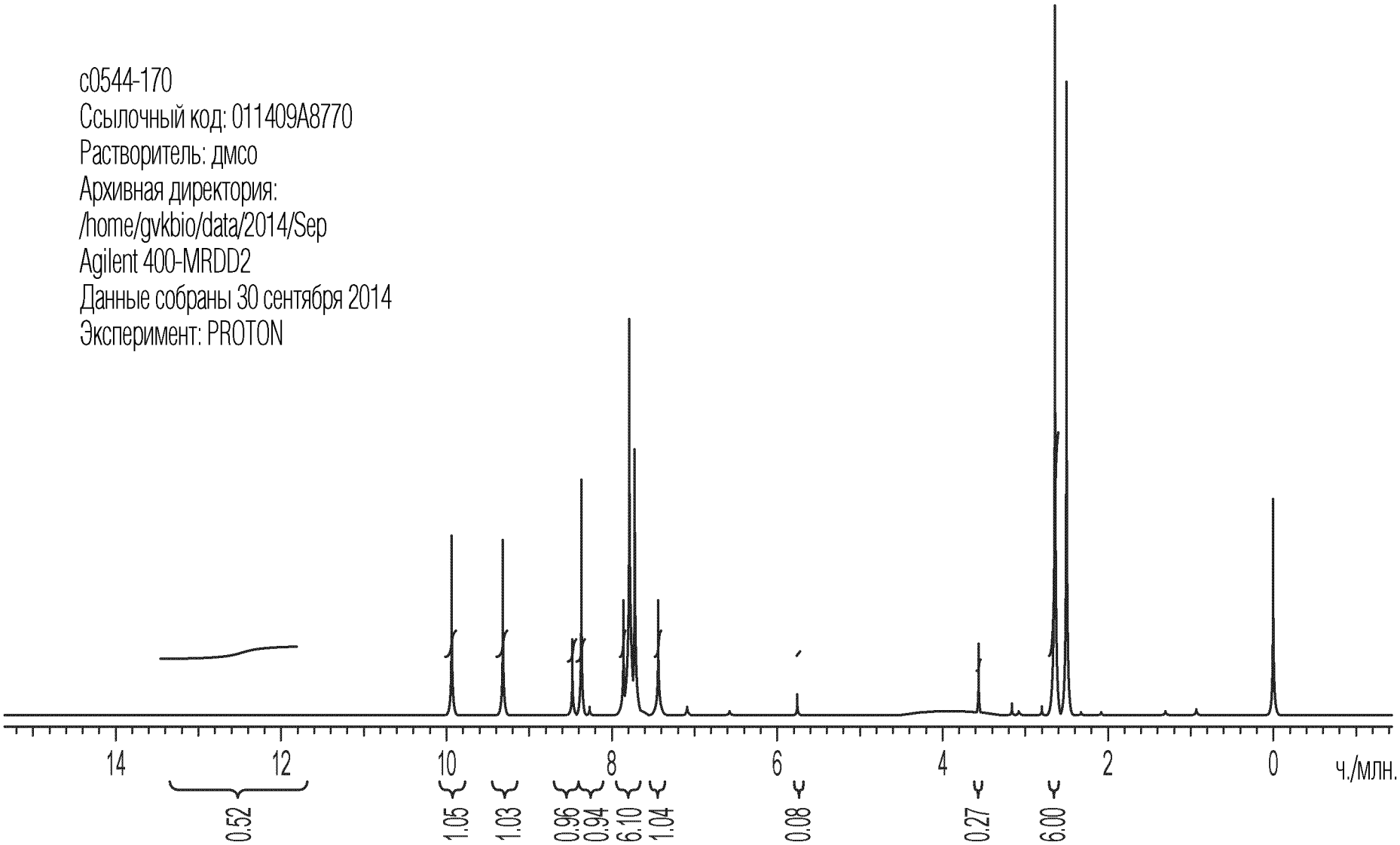
ФИГ. 102A



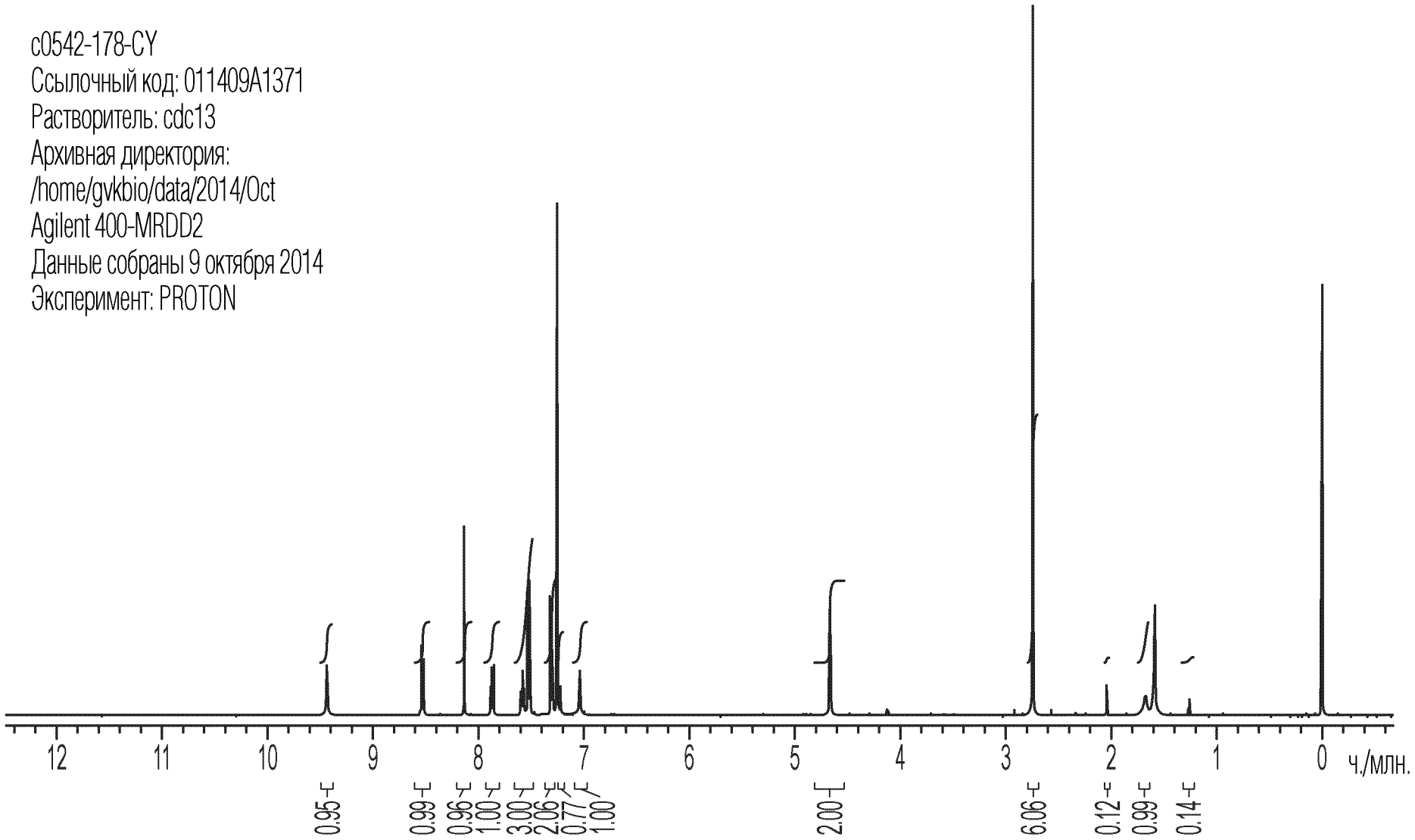
ФИГ. 102B


c0542-40-2
Ссылочный код: 011409A2760
Растворитель: cdc13
Архивная директория:
/home/gvkbio/data/2014/Sep
Agilent 400-MRDD2
Данные собраны 11 сентября 2014
Эксперимент: PROTON
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
ч./млн.
0.89
1.01
0.91
1.00
1.06
1.04
6.36

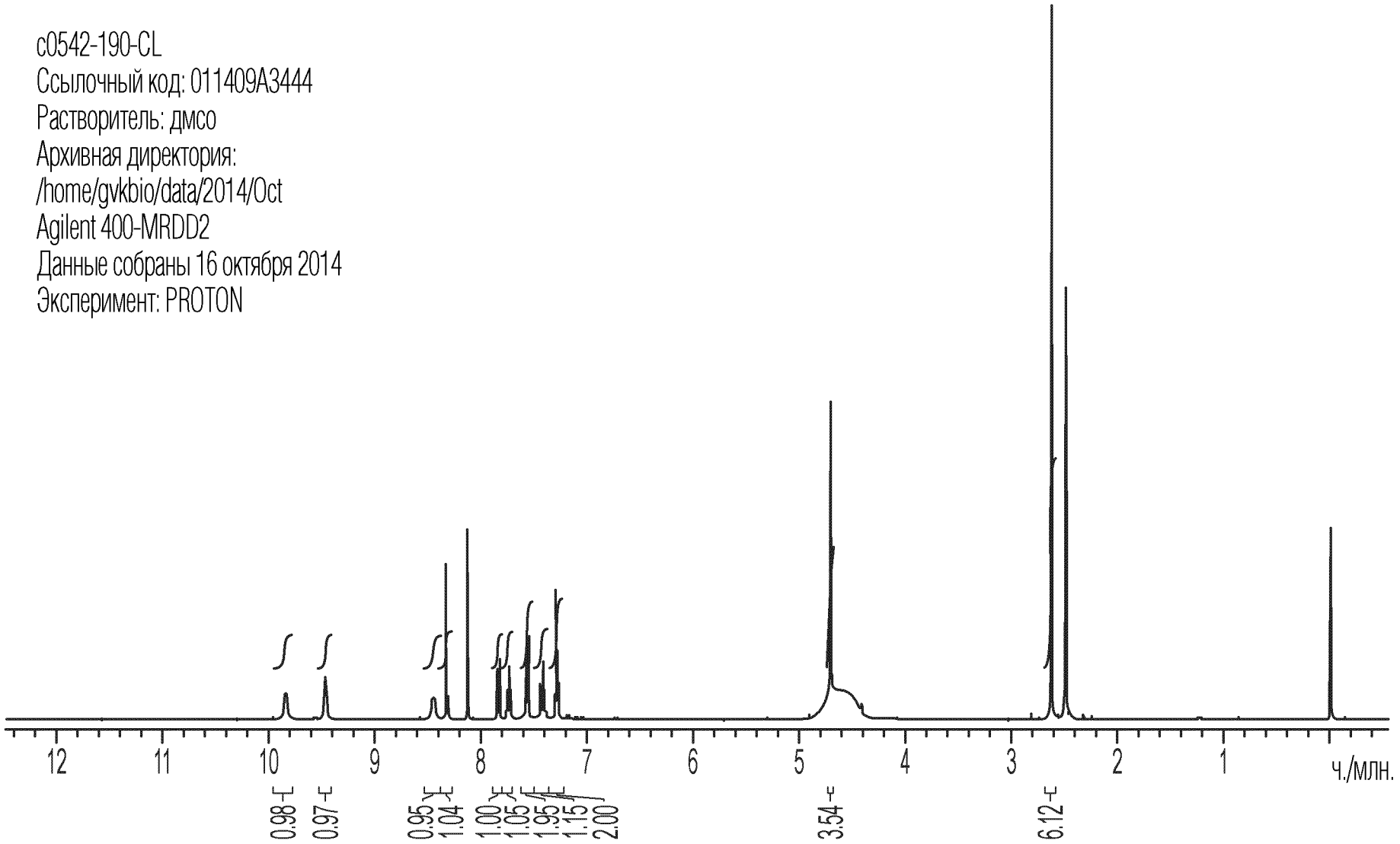
ФИГ. 103А


c0544-170
Ссылочный код: 011409A8770
Растворитель: дмсо
Архивная директория:
/home/gvkbio/data/2014/Sep
Agilent 400-MRDD2
Данные собраны 30 сентября 2014
Эксперимент: PROTON
14
12
10
8
6
4
2
0
ч./млн.
0.52
1.05
1.03
0.96
0.94
6.10
1.04
0.08
0.27
6.00

ФИГ. 103B


c0542-178-CY
Ссылочный код: 011409A1371
Растворитель: cdc13
Архивная директория:
/home/gvkbio/data/2014/Oct
Agilent 400-MRDD2
Данные собраны 9 октября 2014
Эксперимент: PROTON
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
ч./млн.
0.95
0.99
0.96
1.00
3.00
2.06
0.77
1.00
2.00
6.06
0.12
0.99
0.14

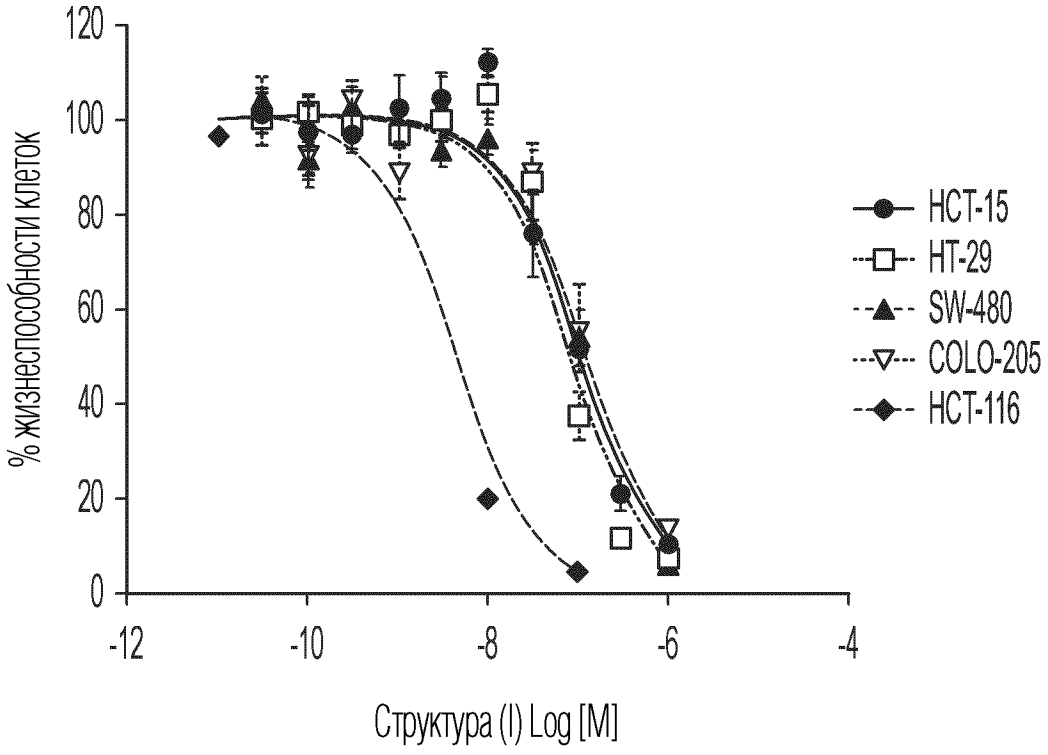
ФИГ. 103C


c0542-190-CL
Ссылочный код: 011409A3444
Растворитель: дмсо
Архивная директория:
/home/gvkbio/data/2014/Oct
Agilent 400-MRDD2
Данные собраны 16 октября 2014
Эксперимент: PROTON
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
ч./млн.
0.98
0.97
0.95
1.04
1.00
1.05
1.95
1.15
2.00
3.54
6.12

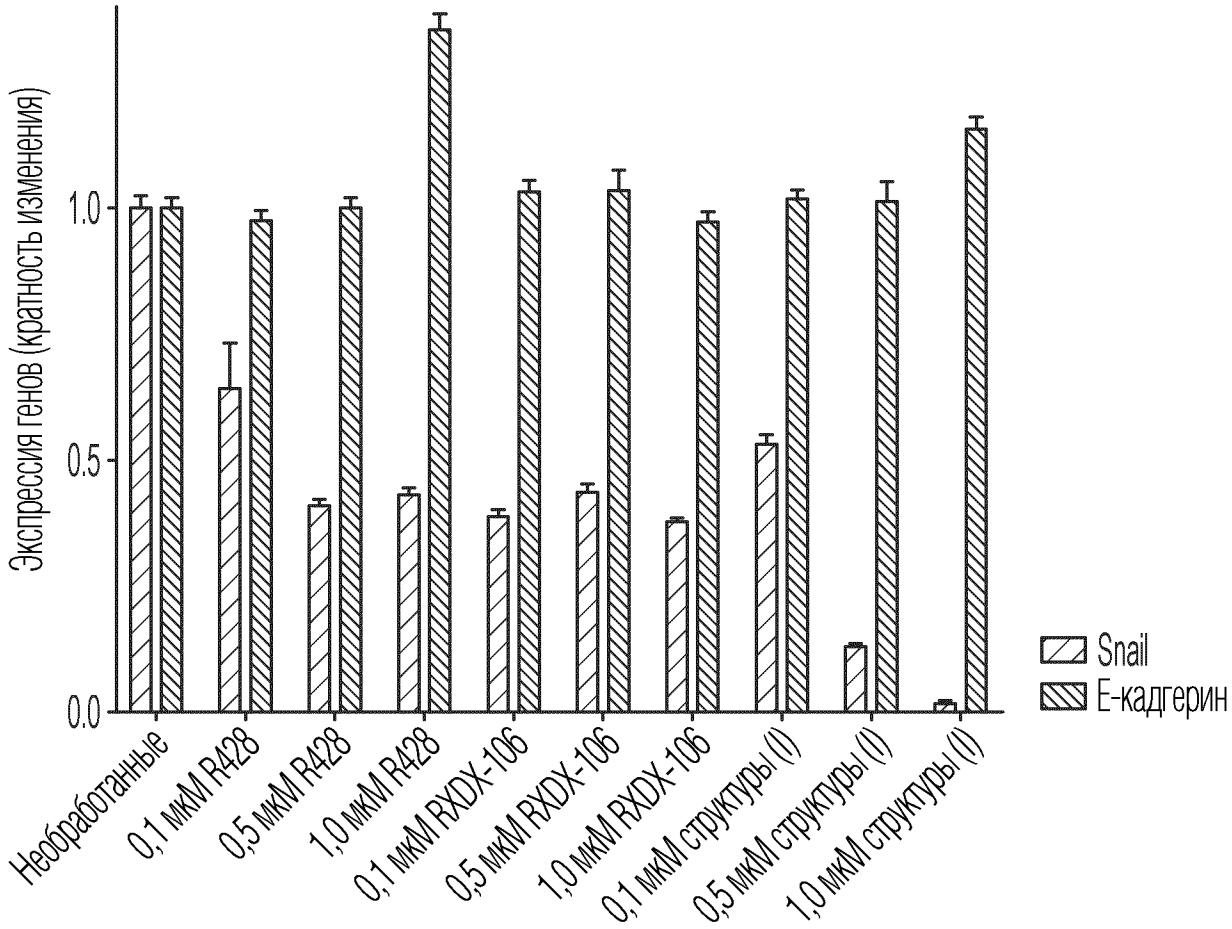
ФИГ. 103D

Колония клеток	Статус KRAS	IC50
HCT-15	ДТ	109 нМ
HT-29	ДТ	84 нМ
SW-480	G12V	108 нМ
COLO-205	ДТ	123 нМ
HCT-116	G13D	4,5 нМ

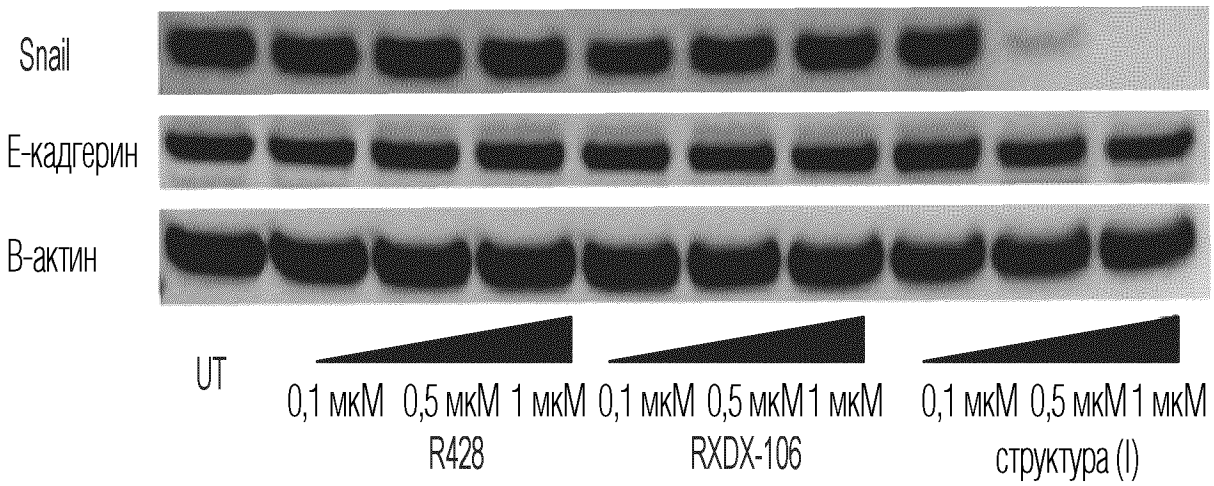
ФИГ. 104A



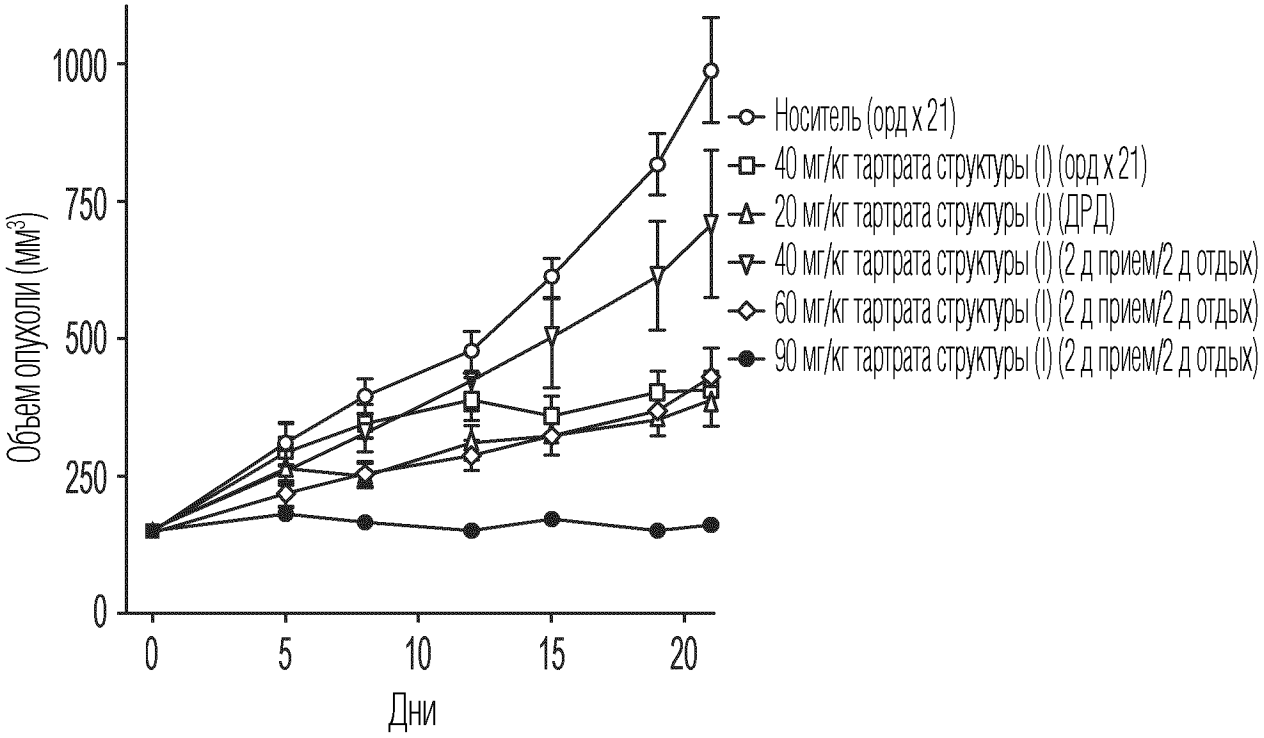
ФИГ. 104B



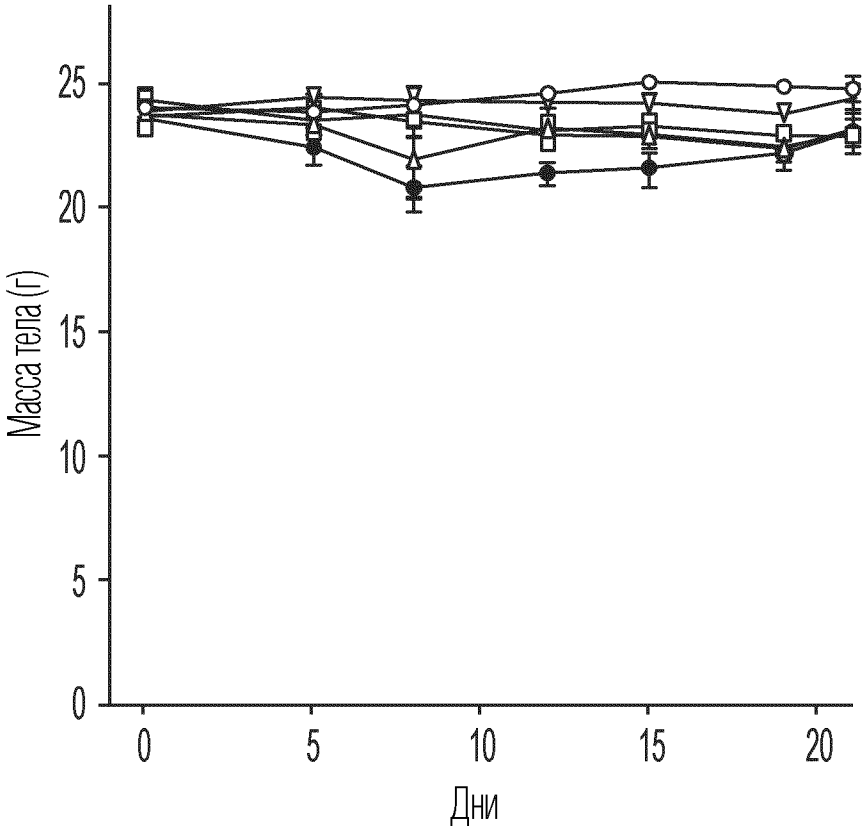
ФИГ. 105A



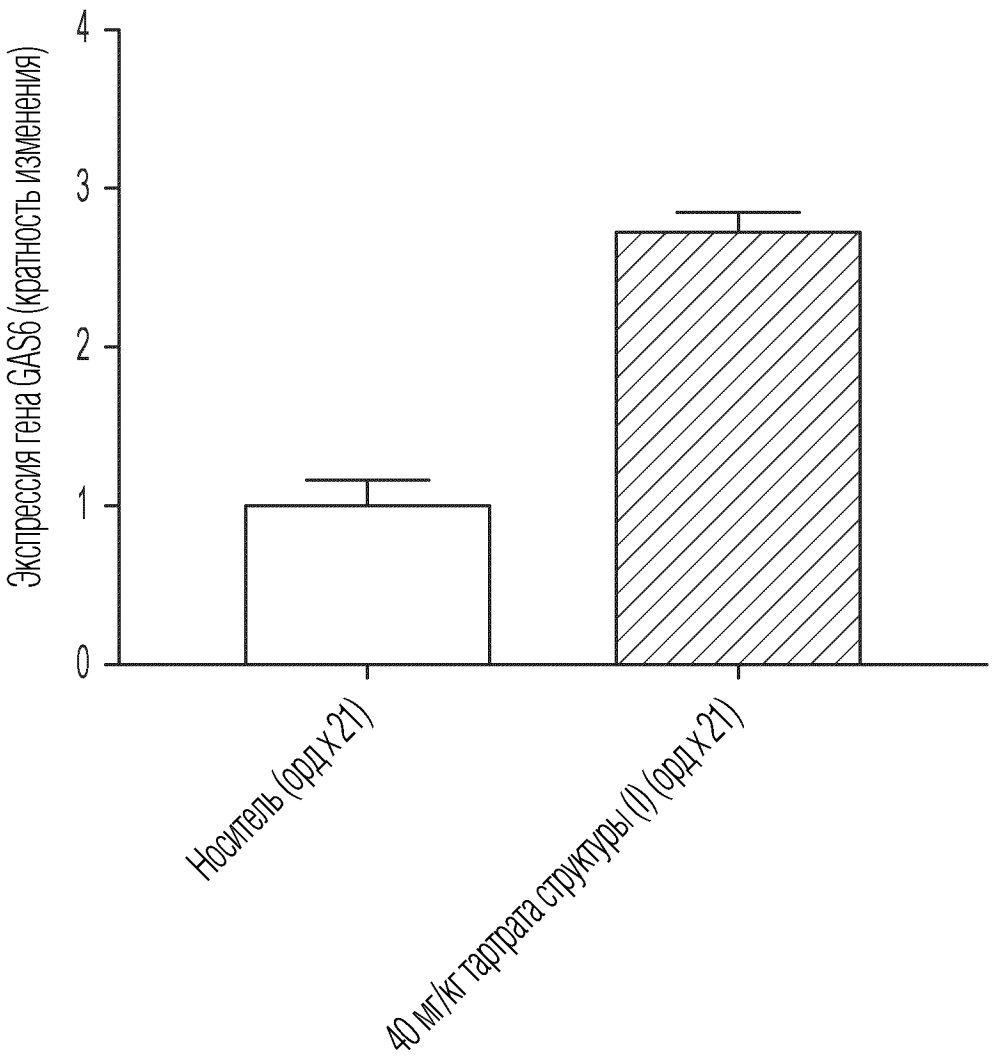
ФИГ. 105B



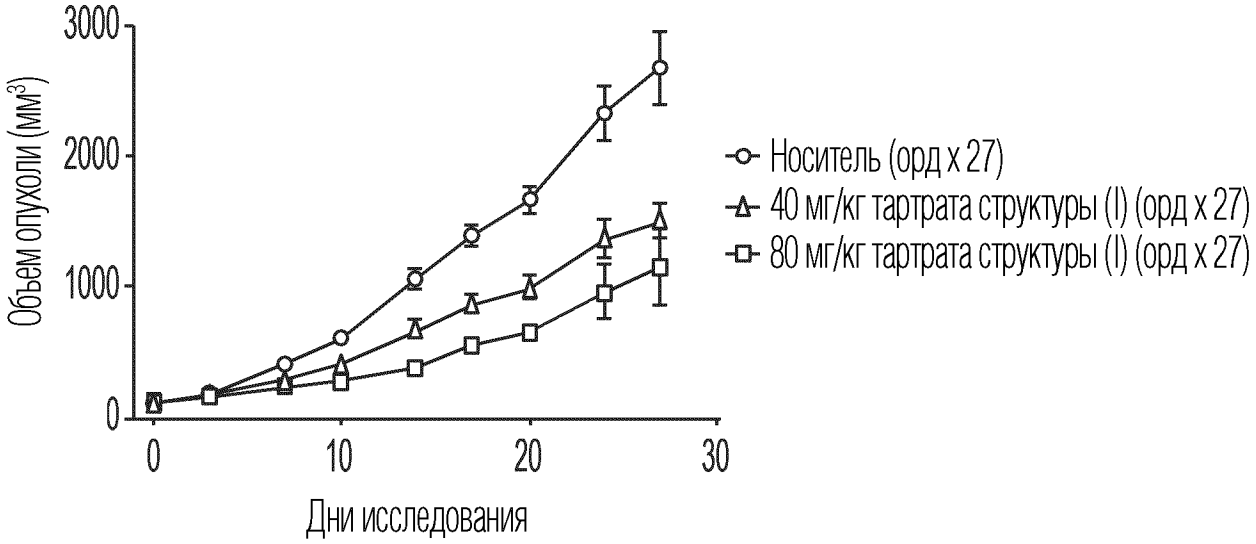
ФИГ. 106A



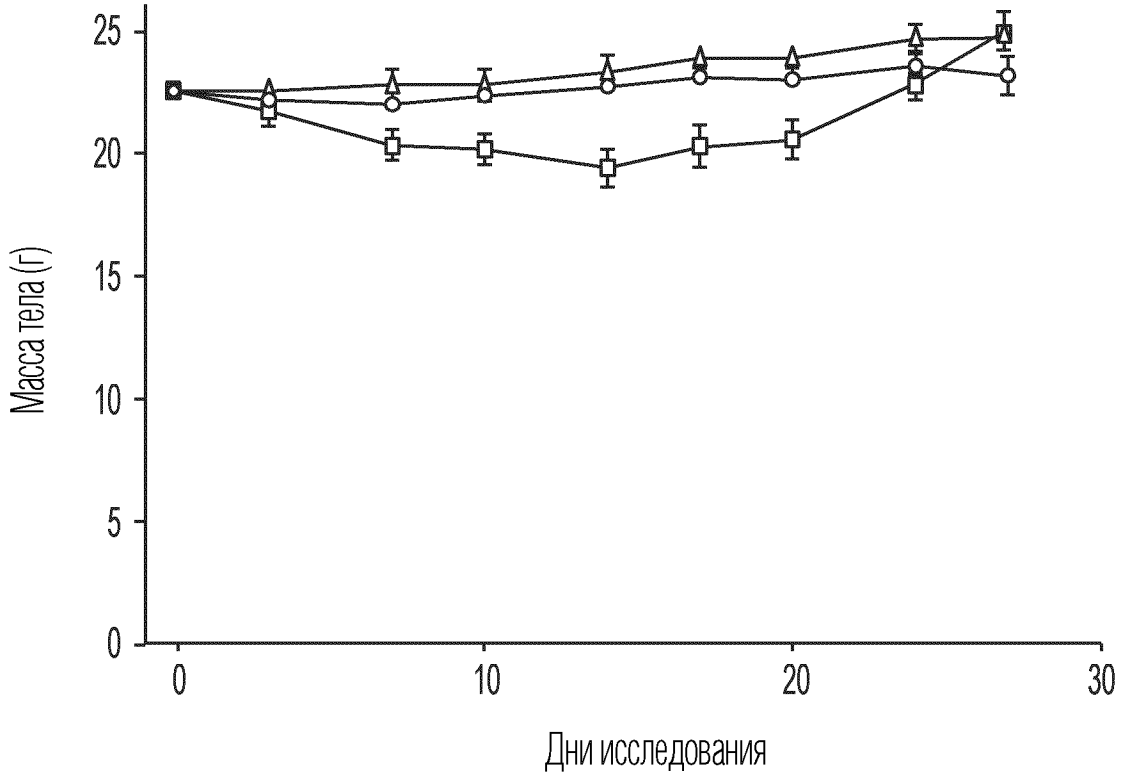
ФИГ. 106B


Экспрессия гена GAS6 (кратность изменения)
4
3
2
1
0
Носитель (орд x 21)
40 мг/кг тартрата структуры (I) (орд x 21)

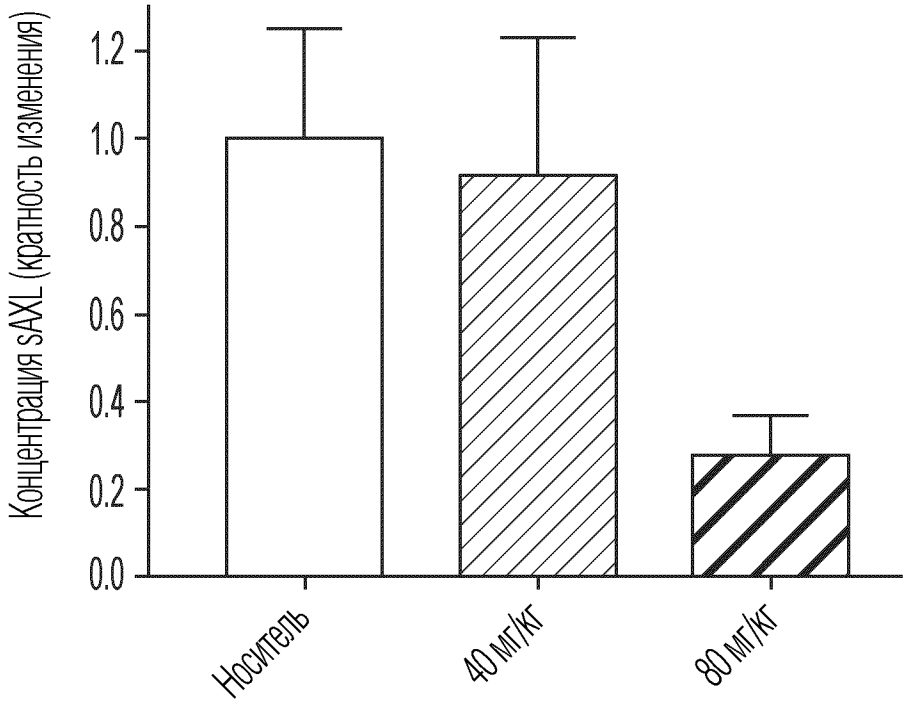
ФИГ. 106C



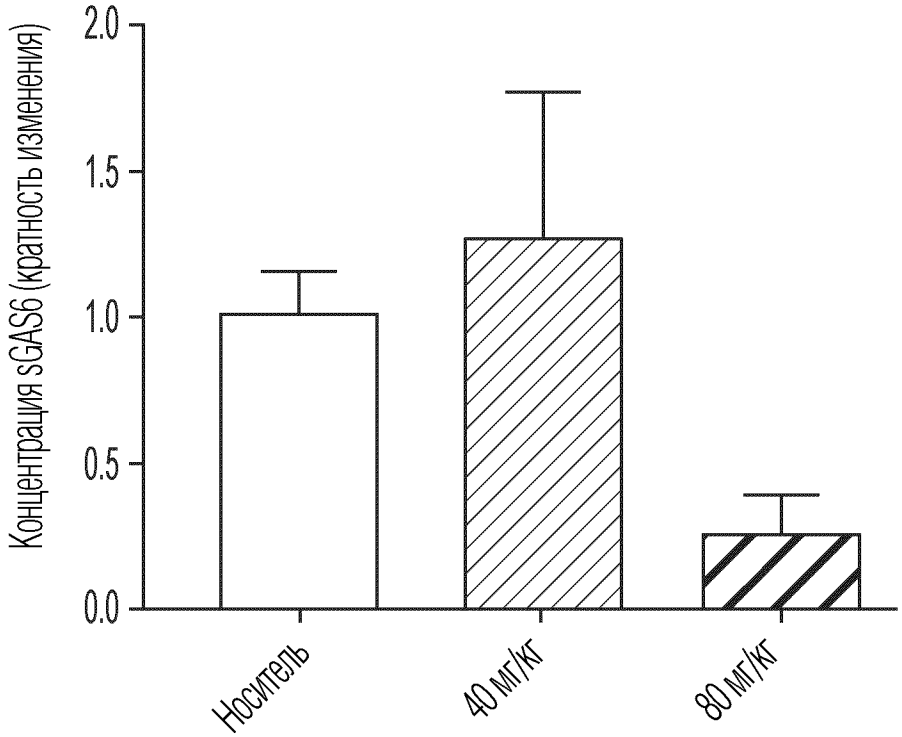
ФИГ. 107A



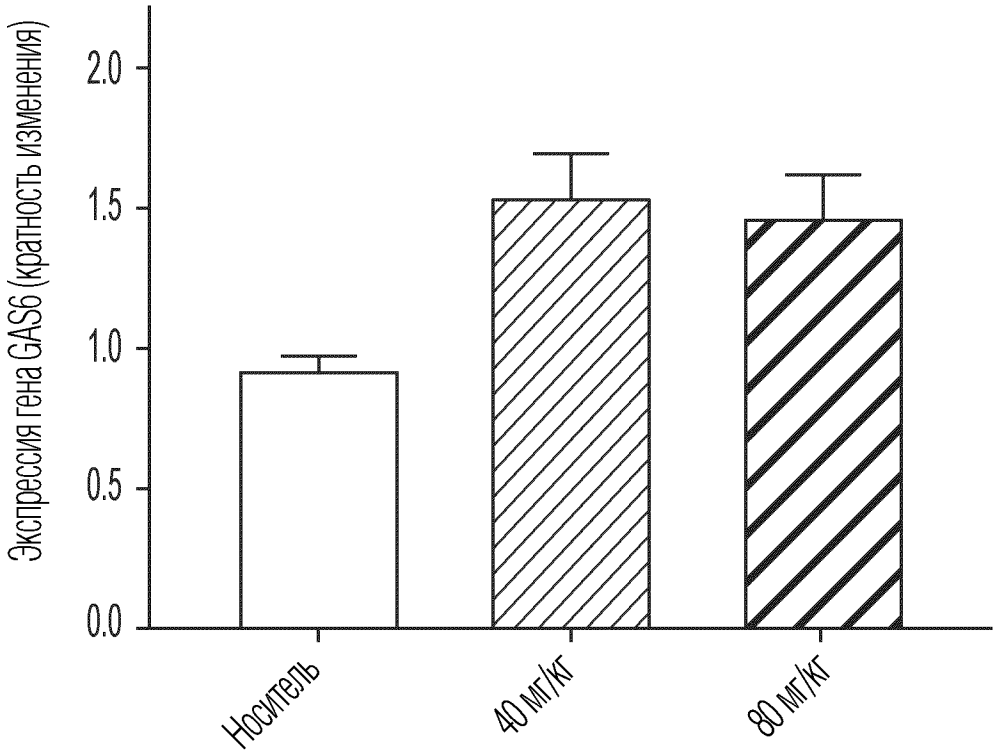
ФИГ. 107B



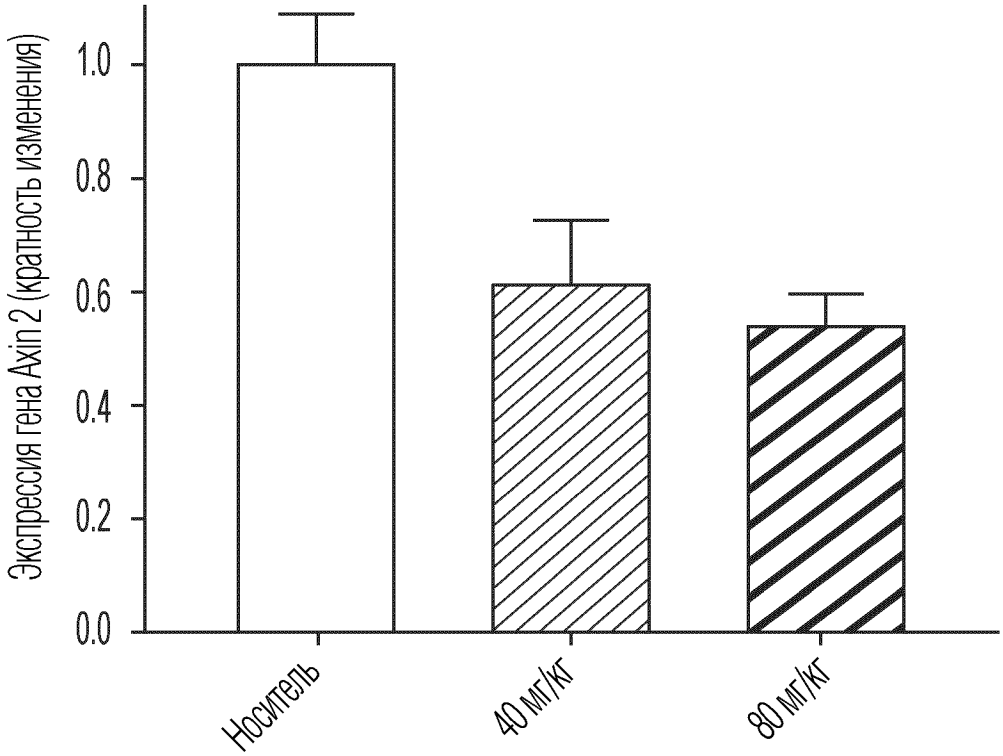
ФИГ. 108A



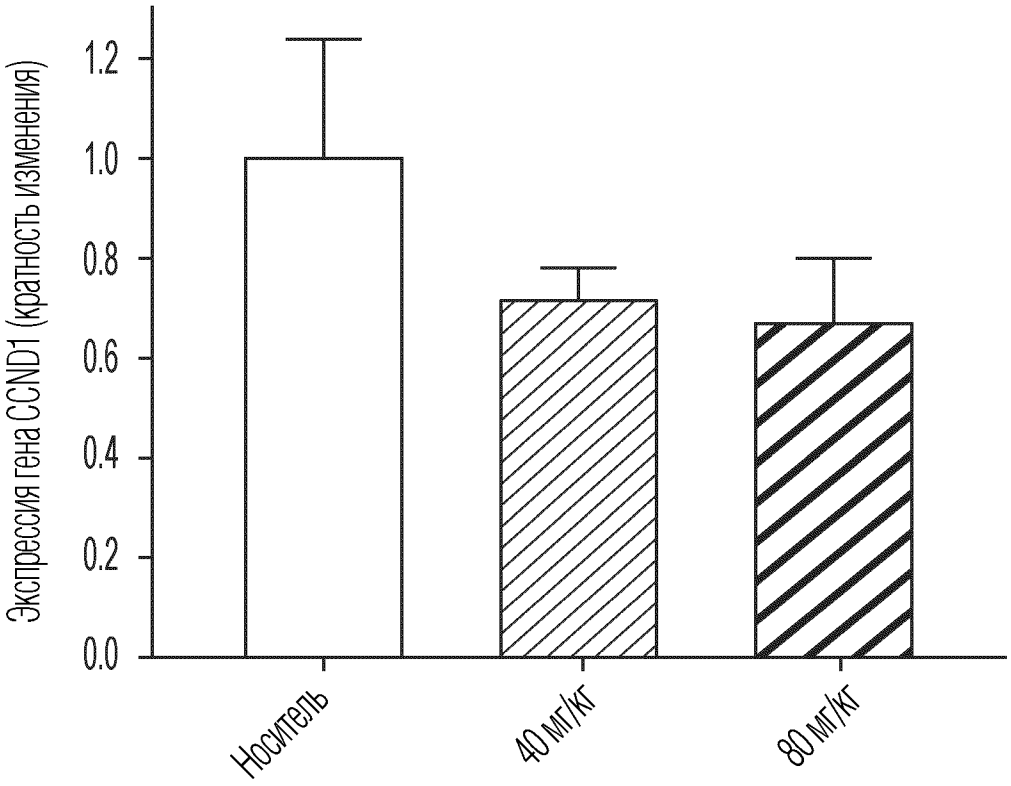
ФИГ. 108B



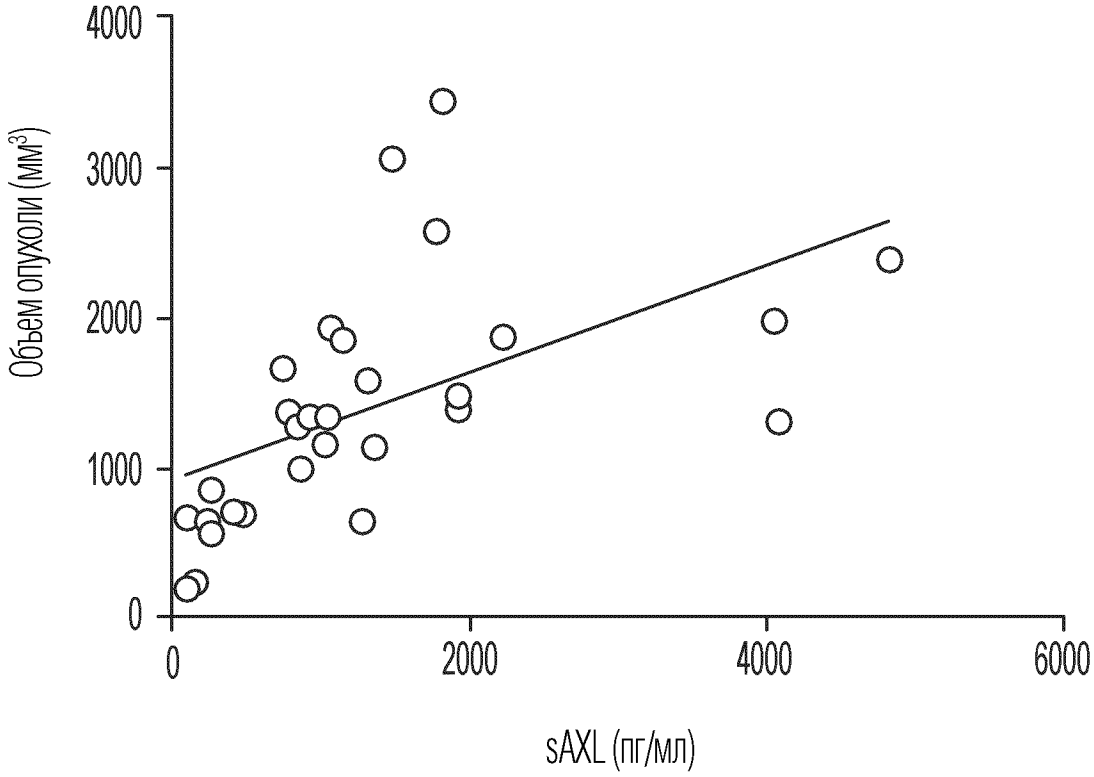
ФИГ. 108C

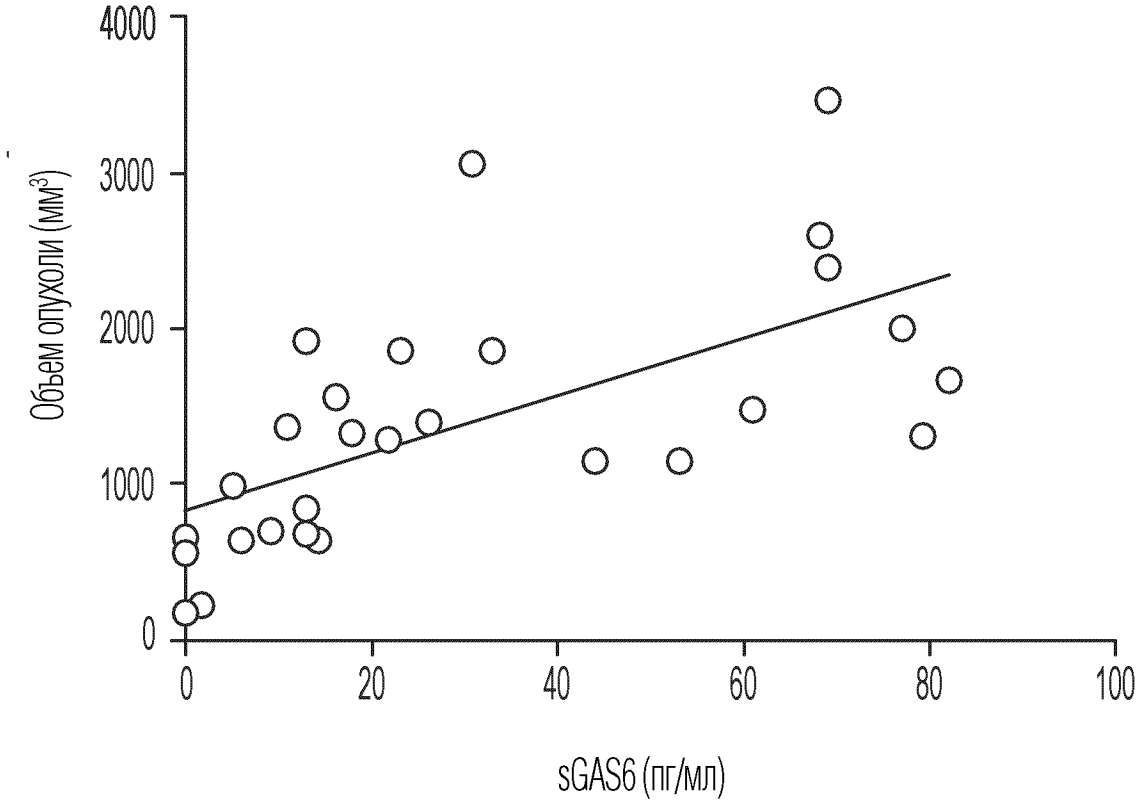


ФИГ. 108D

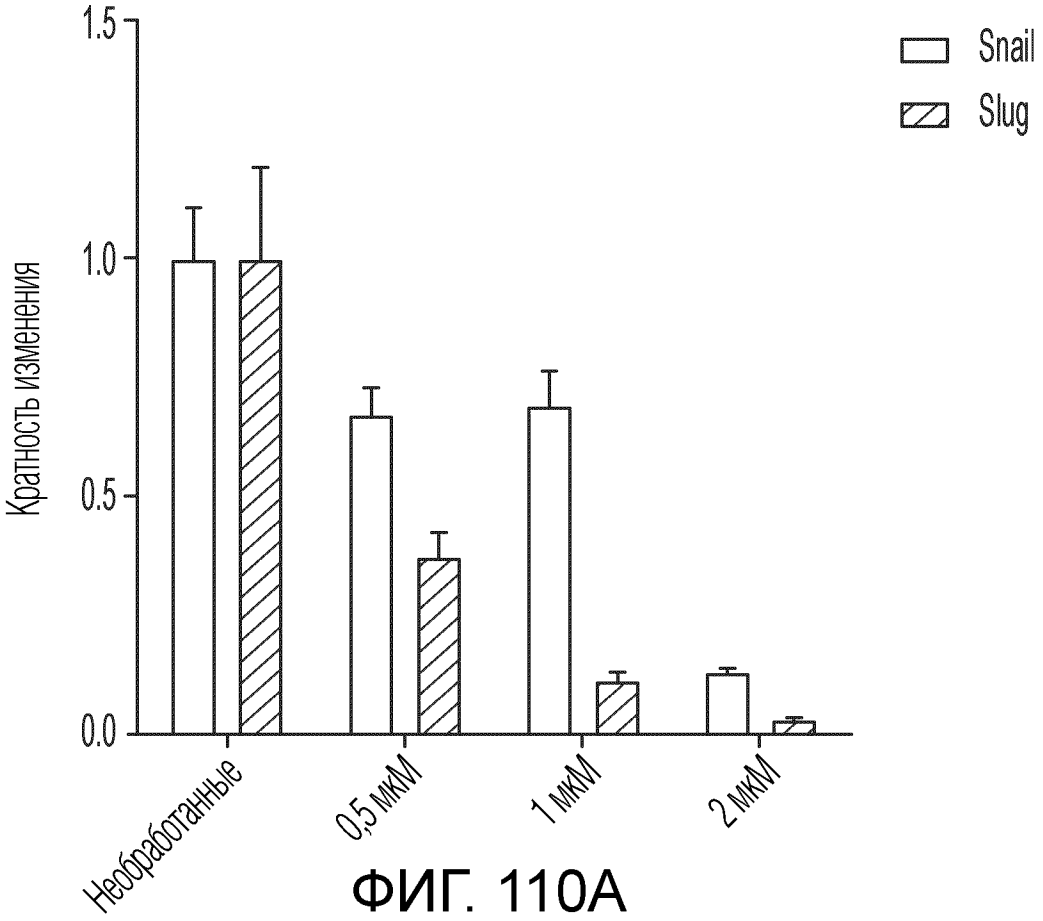

Экспрессия гена CCND1 (кратность изменения)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
Носитель
40 мг/кг
80 мг/кг

ФИГ. 108E

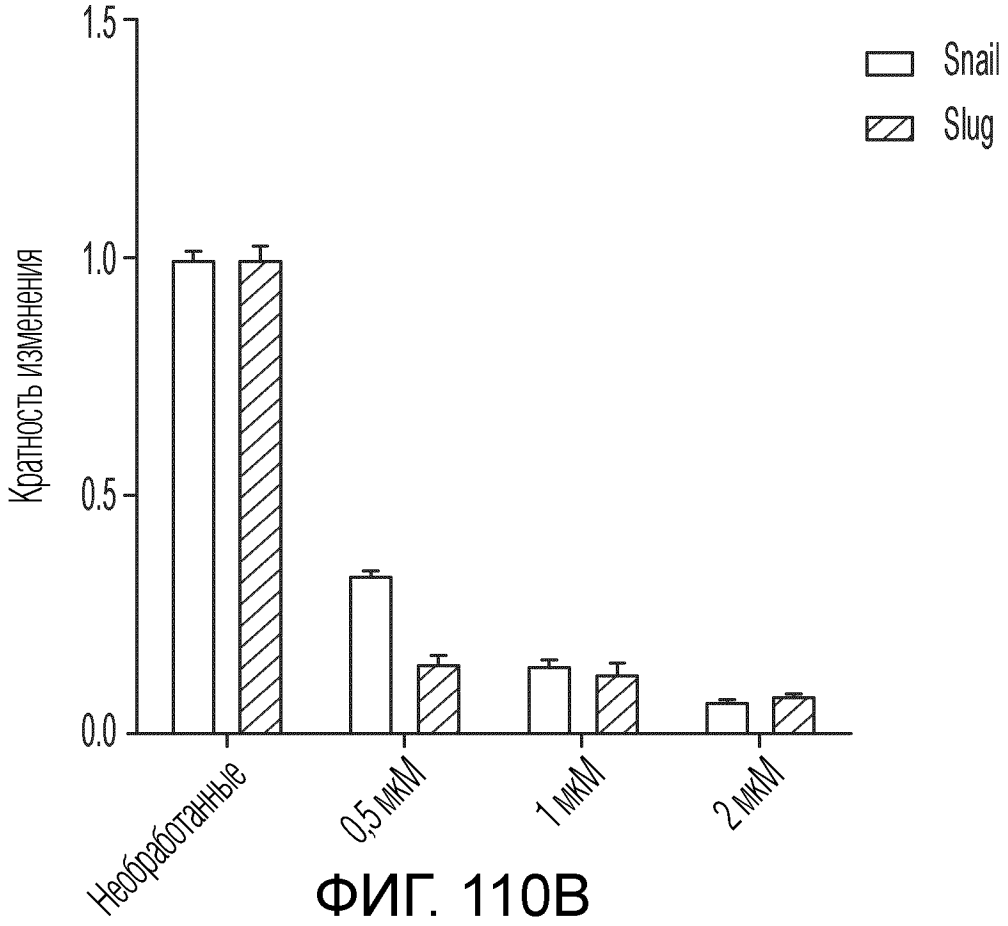

4000
3000
2000
1000
0
Объем опухоли (мм3)
0
2000
4000
6000
sAXL (пг/мл)


4000
3000
2000
1000
0
Объем опухоли (мм3)
0
20
40
60
80
100
sGAS6 (пг/мл)

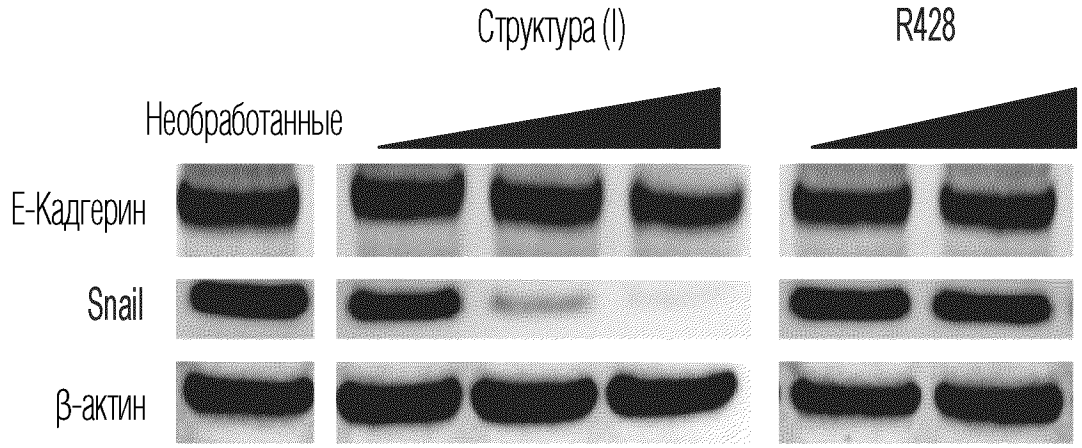
ФИГ. 109



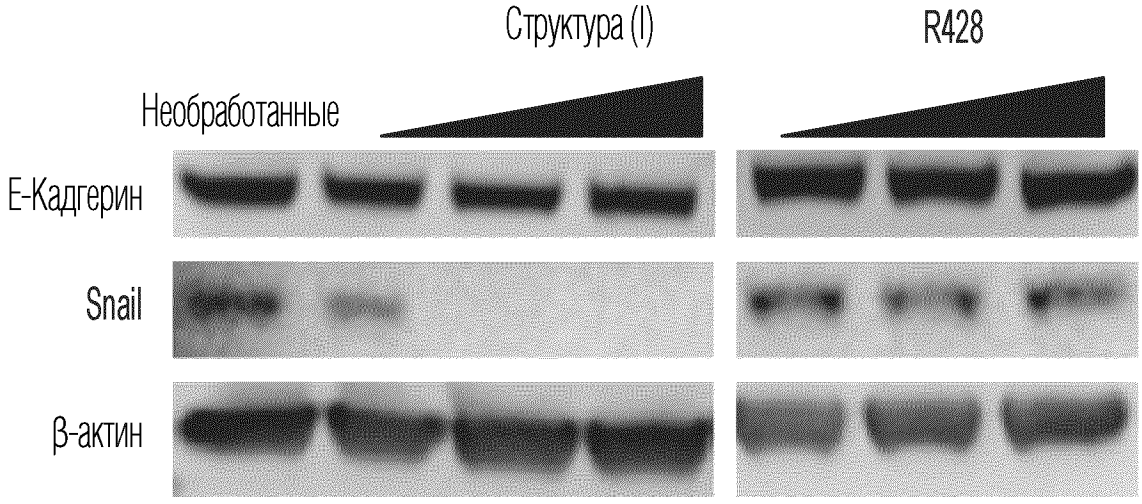
ФИГ. 110A



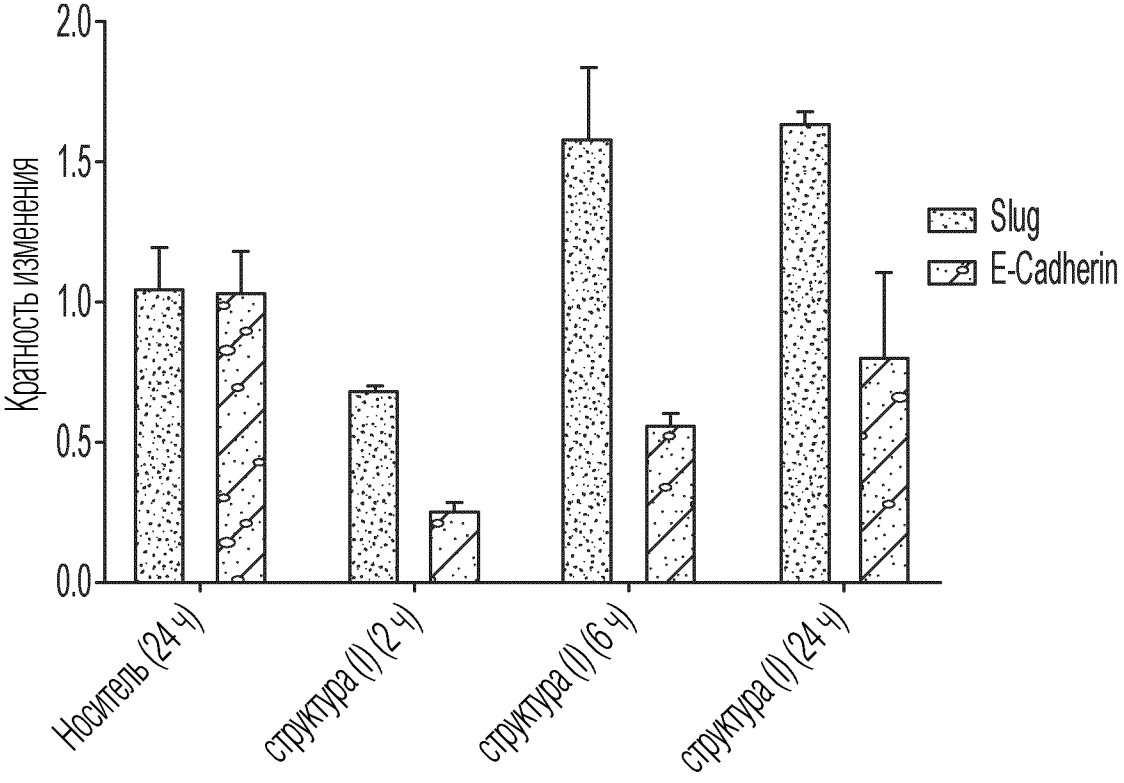
ФИГ. 110B



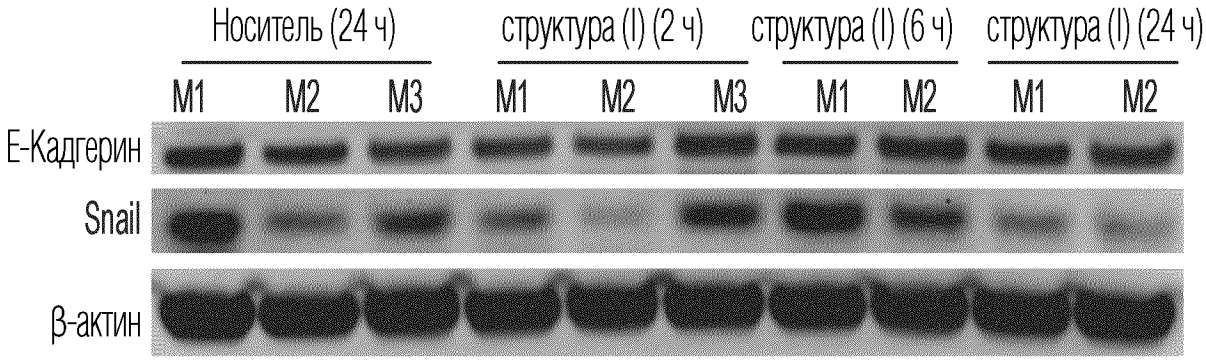
ФИГ. 111A



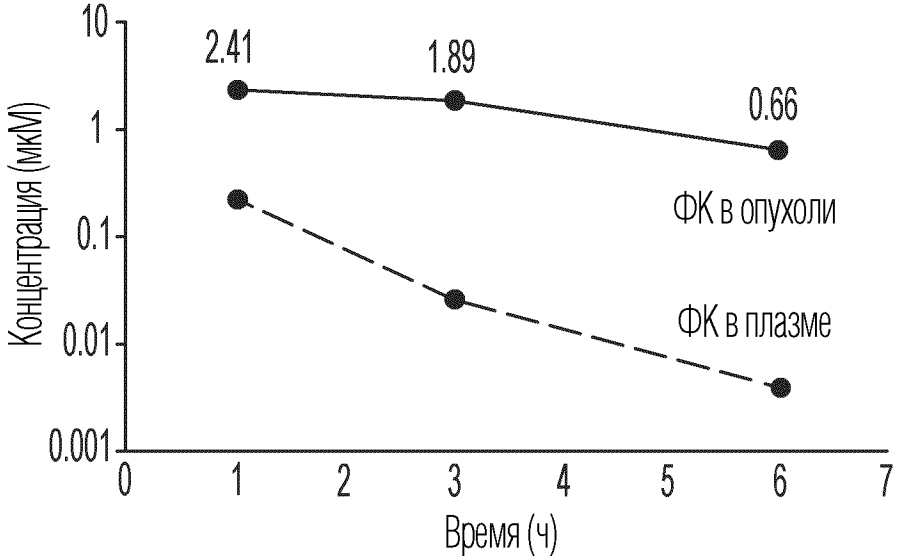
ФИГ. 111B



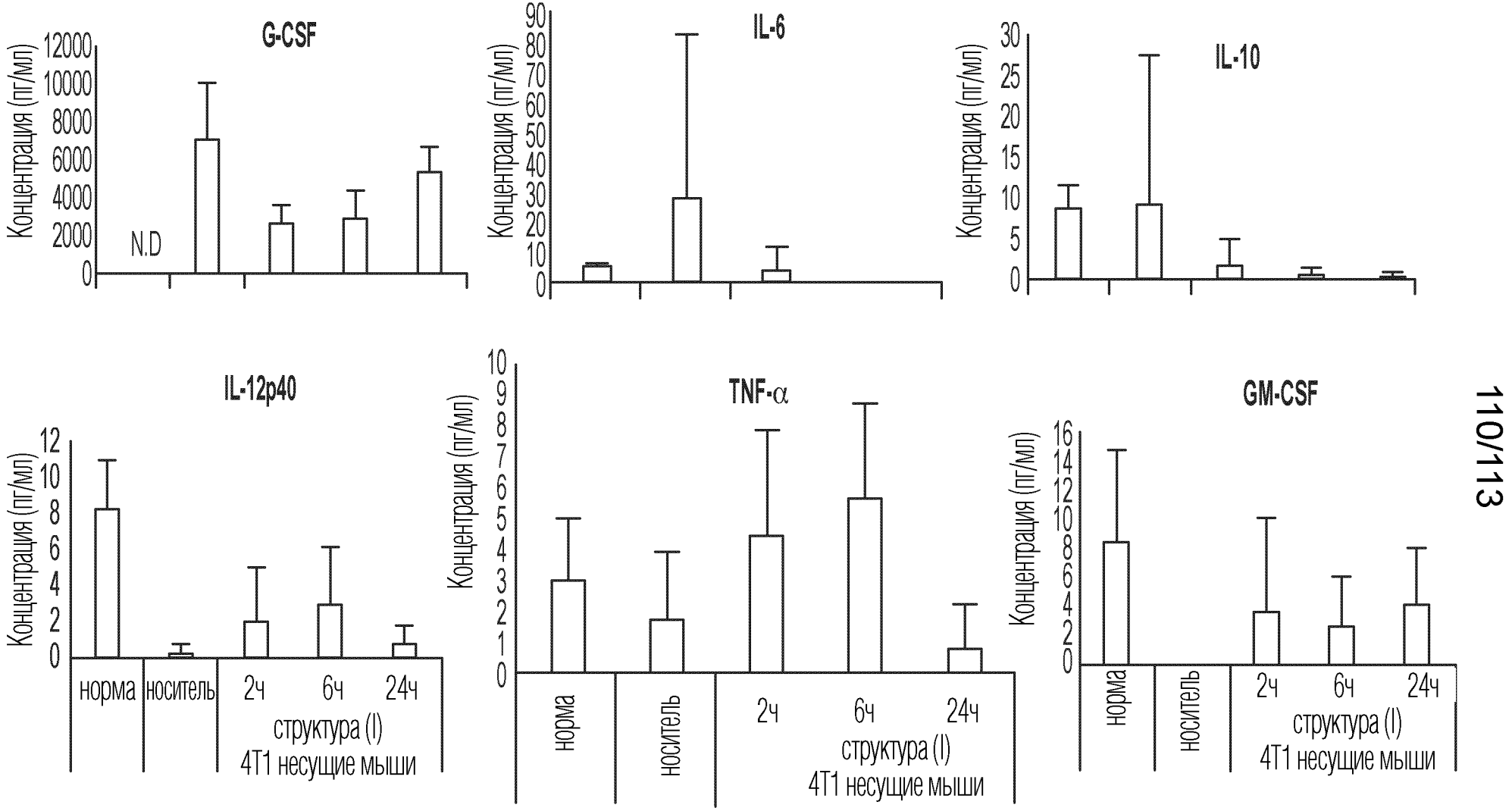
ФИГ. 112



ФИГ. 113

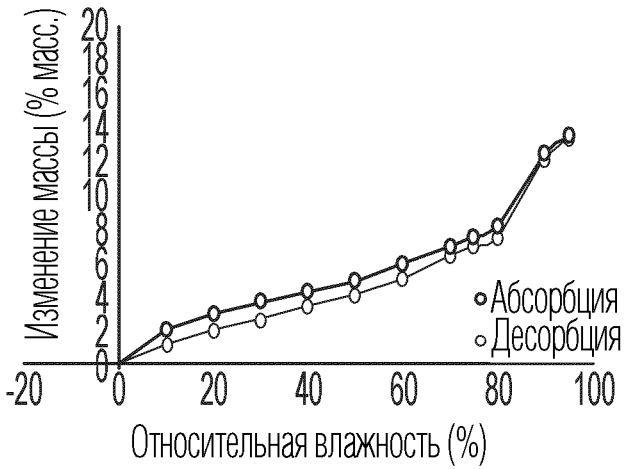

10
1
0.1
0.01
0.001
Концентрация (мкМ)
2.41
1.89
0.66
ФК в опухоли
ФК в плазме
0
1
2
3
4
5
6
7
Время (ч)

ФИГ. 114

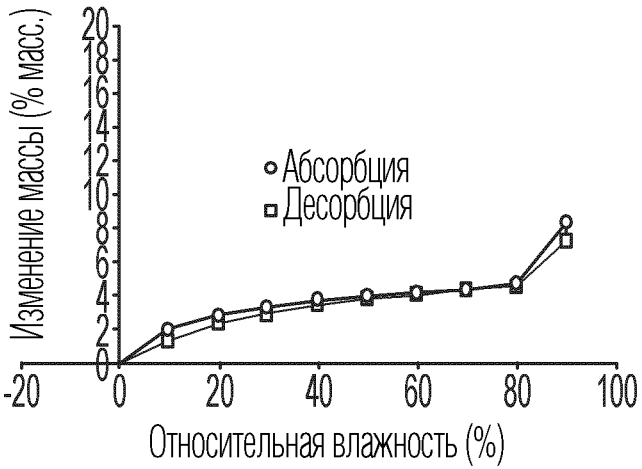

G-CSF
Концентрация (пг/мл)
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
N.D
IL-6
Концентрация (пг/мл)
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
IL-10
Концентрация (пг/мл)
30
25
20
15
10
5
0
IL-12p40
Концентрация (пг/мл)
12
10
8
6
4
2
0
норма
носитель
2ч
6ч
24ч
структура (I)
4T1 несущие мыши
TNF-α
Концентрация (пг/мл)
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
норма
носитель
2ч
6ч
24ч
структура (I)
4T1 несущие мыши
GM-CSF
Концентрация (пг/мл)
16
14
12
10
8
6
4
2
0
норма
носитель
2ч
6ч
24ч
структура (I)
4T1 несущие мыши

ФИГ. 115

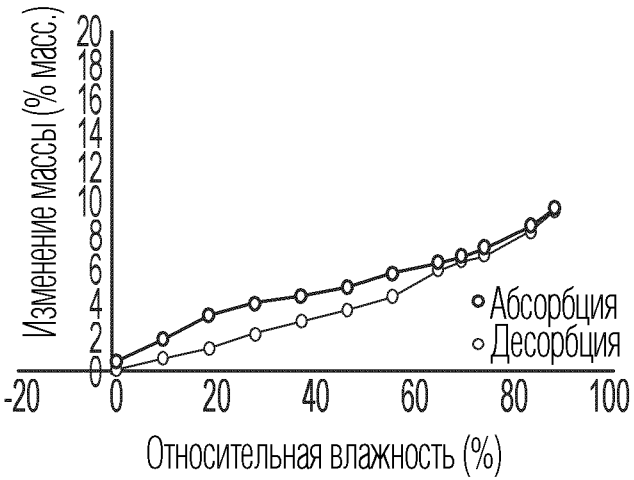
Фома A' (свободное основание:винная кислота = 1:1,5)



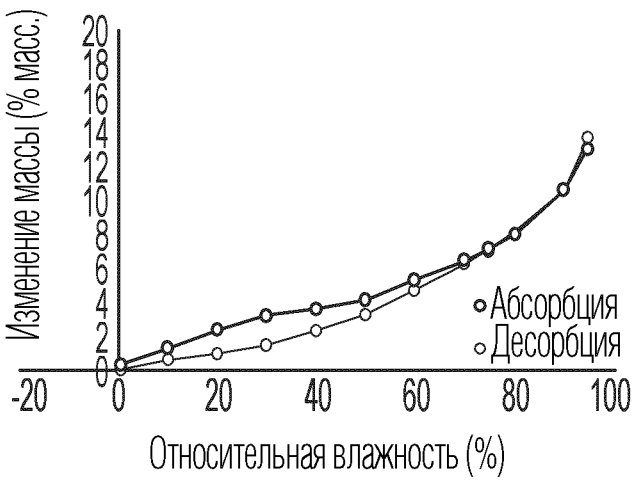
Фома A (свободное основание:винная кислота = 1:2)



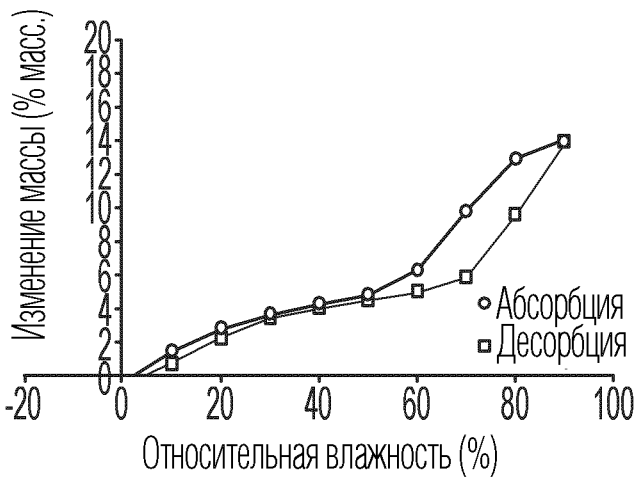
Фома B (свободное основание:винная кислота = 1:1,2)



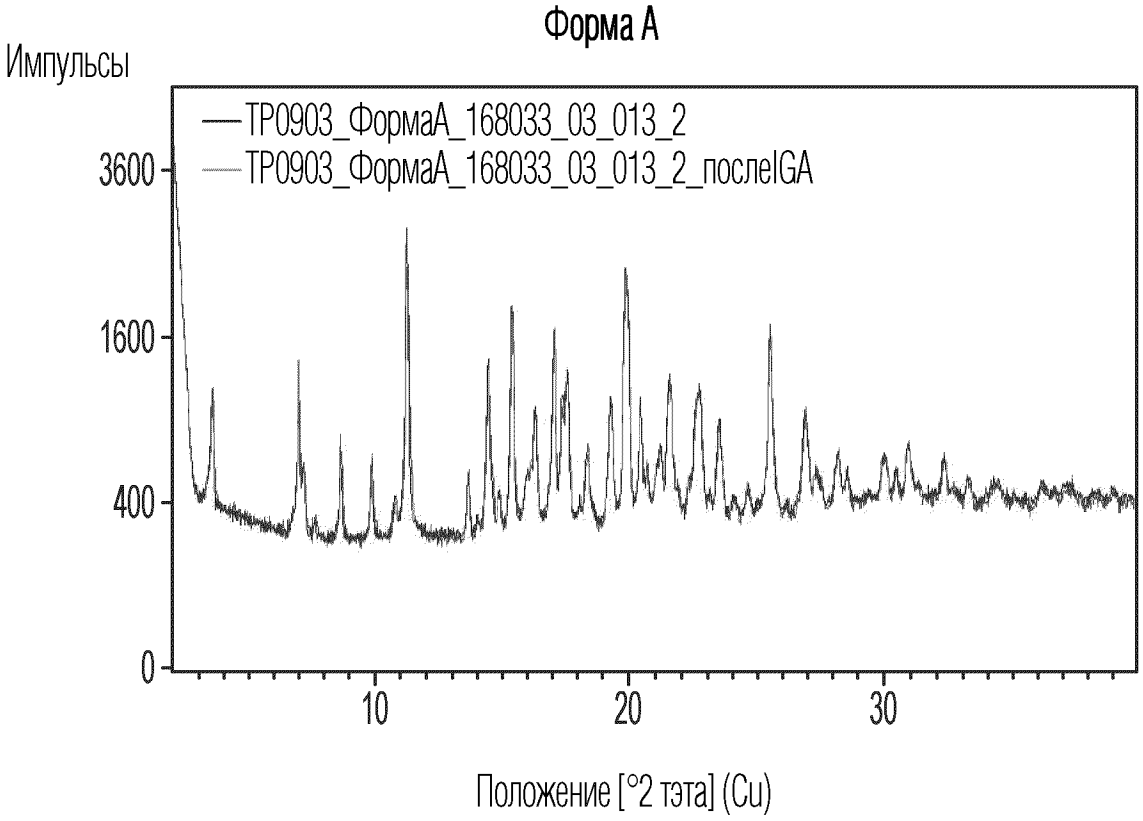
Фома C

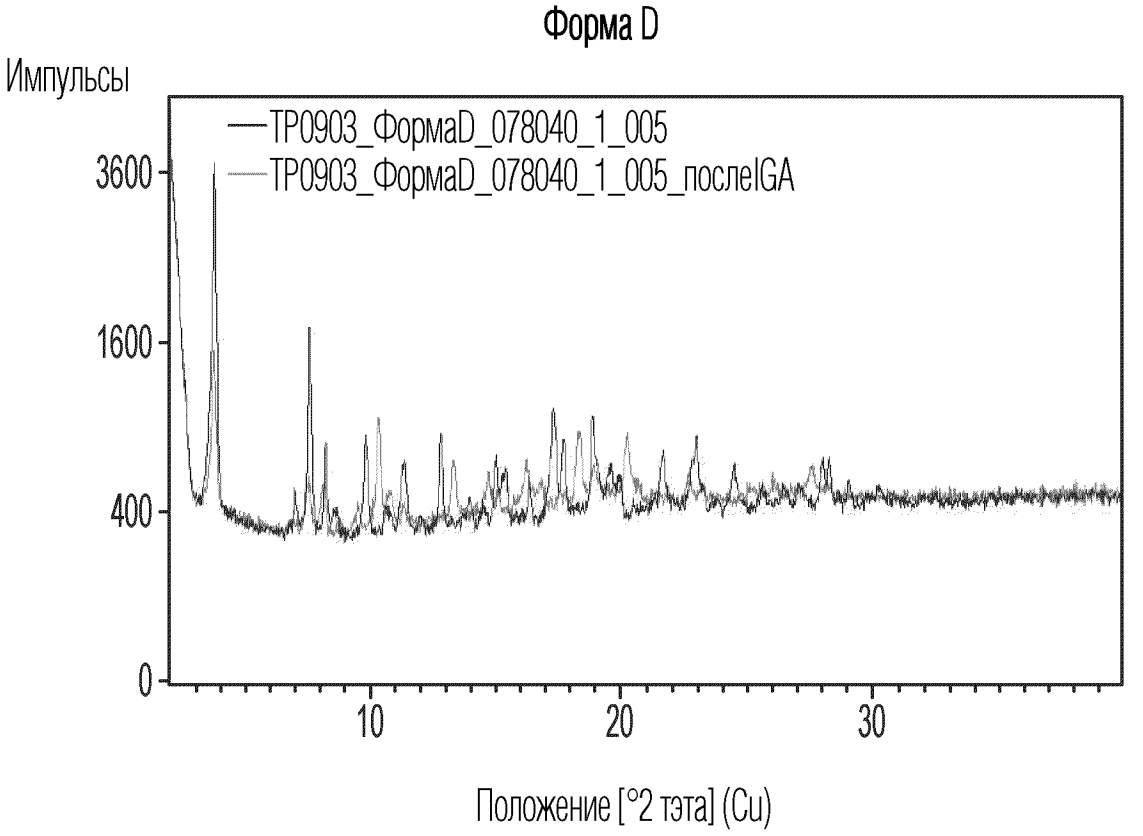


Фома D (свободное основание:винная кислота = 1:1)

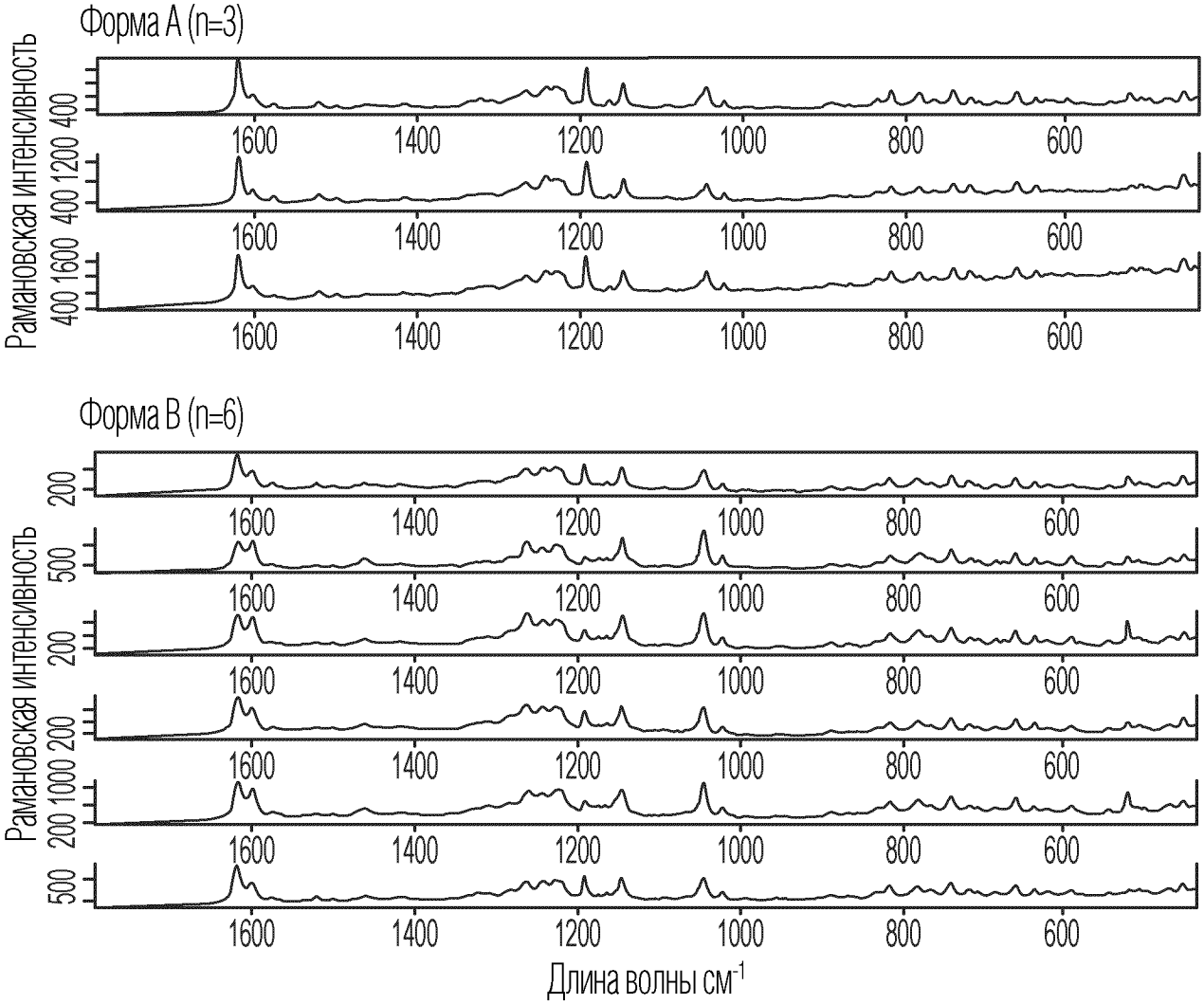


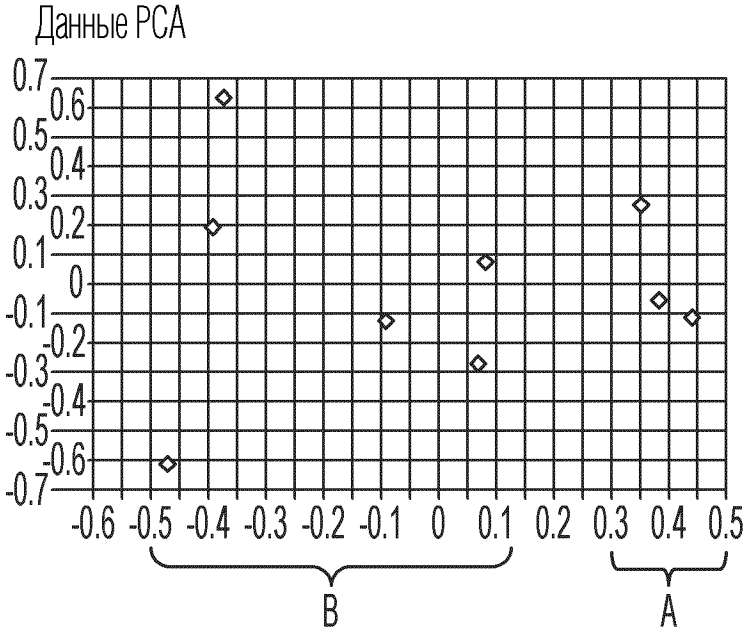
ФИГ. 116


Форма A
Импульсы
TP0903_ФормаA_168033_03_013_2
TP0903_ФормаA_168033_03_013_2_послеIGA
3600
1600
400
0
10
20
30
Положение [°2 тэта] (Cu)


Форма D
Импульсы
TP0903_ФормаD_078040_1_005
TP0903_ФормаD_078040_1_005_послеIGA
3600
1600
400
0
10
20
30
Положение [°2 тэта] (Cu)

ФИГ. 117


Форма A (n=3)
Рамановская интенсивность
Форма B (n=6)
Рамановская интенсивность
Длина волны см-1


Данные PCA
B
A

ФИГ. 118