

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202191283 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.10.13(22) Дата подачи заявки
2019.12.06(51) Int. Cl. *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/015 (2006.01)
A61K 31/137 (2006.01)
A61K 31/138 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ УСТОЙЧИВОГО К ИНГИБИТОРАМ CDK4/6 РАКА

(31) 62/776,323

(32) 2018.12.06

(33) US

(86) PCT/US2019/065005

(87) WO 2020/118213 2020.06.11

(71) Заявитель:

РАДИУС ФАРМАСЬЮТИКАЛС,
ИНК. (US)

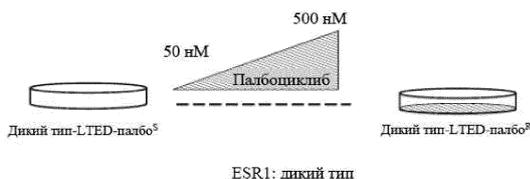
(72) Изобретатель:

Пател Хитиша, Бихани Тиру, Арлт
Хайке, Тао Нианджун (US)

(74) Представитель:

Гизатуллин Ш.Ф., Угрюмов В.М.,
Гизатуллина Е.М., Строкова О.В.,
Костюшенкова М.Ю. (RU)

(57) В изобретении раскрыты способы лечения положительного по эстрогеновому рецептору-альфа, устойчивого к ингибиторам CDK4/6 рака у субъекта, имеющего либо эстрогеновый рецептор-альфа дикого типа и/либо мутантный эстрогеновый рецептор-альфа, причем способ предусматривает введение субъекту терапевтически эффективного количества элацестранта или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, причем мутантный эстрогеновый рецептор-альфа содержит одну или несколько мутаций, выбранных из группы, состоящей из D538G, Y537X₁, L536X₂, P535H, V534E, S463P, V392I, E380Q и их комбинаций, где X₁ представляет собой S, N или C; а X₂ представляет собой R или Q. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак выбран из группы, состоящей из рака молочной железы, рака матки, рака яичников и рака гипофиза.



A1

202191283

202191283

A1

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ УСТОЙЧИВОГО К ИНГИБИТОРАМ CDK4/6 РАКА

ОПИСАНИЕ

Ссылка на родственные заявки

[0001] Согласно настоящей заявке испрашивается приоритет по 35 U.S.C. § 119(e) в соответствии с предварительной заявкой на патент США № 62/776323, поданной 6 декабря 2018 года. Все содержание вышеупомянутой заявки настоящим во всей своей полноте включено посредством ссылки, включая чертежи.

Область техники, к которой относится настоящее изобретение

[0002] Настоящее изобретение относится к способам обеспечения противоопухолевой активности с применением элацестранта на устойчивых к ингибиторам CDK4/6 моделях рака, несущих мутации ESR1. Настоящее изобретение также относится к способам лечения эстроген-положительных (ER+) форм рака, имеющих мутации ESR1, которые могут способствовать развитию устойчивости к ингибиторам CDK4/6, если рак лечат с применением элацестранта.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

[0003] Рак молочной железы делится на три подтипа по экспрессии трех рецепторов: эстрогенового рецептора (ER), прогестеронового рецептора (PR) и рецептора-2 эпидермального фактора роста человека (Her2). Сверхэкспрессия ER обнаруживается у многих пациентов с раком молочной железы. ER-положительный (ER+) рак молочной железы составляет две трети всех случаев рака молочной железы. Помимо рака молочной железы, эстроген и ER связаны, например, с раком яичников, раком толстой кишки, раком предстательной железы и раком эндометрия.

[0004] ER могут быть активированы эстрогеном и перемещаются в ядро для связывания с ДНК, тем самым регулируя активность различных генов. См., например, Marino et al., "Estrogen Signaling Multiple Pathways to Impact Gene Transcription," *Curr. Genomics* 7(8): 497-508 (2006); и Heldring et al., "Estrogen Receptors: How Do They Signal and What Are Their Targets," *Physiol. Rev.* 87(3): 905-931 (2007).

[0005] Средства, подавляющие выработку эстрогена, такие как ингибиторы ароматазы (AI, например, летрозол, анастрозол и экземестан), или средства, которые напрямую блокируют активность ER, такие как селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов (SERM, например, тамоксифен, торемифен, дролоксифен, идоксифен,

ралоксифен, лазофоксифен, арзоксифен, мипроксифен, левормелоксифен и EM-652 (SCH 57068)) и селективные деструкторы эстрогеновых рецепторов (SERD, например, фулвестрант, TTAS-108 (SR16234), ZK191703, RU58668, GDC-0810 (ARN-810), GW5638/DPC974, SRN-927, ICI182780 и AZD9496), применялись и ранее или находятся на стадии разработки для лечения ER-положительных форм рака молочной железы.

[0006] SERM и AI зачастую применяют в качестве вспомогательной системной терапии первой линии при ER-положительном раке молочной железы. AI подавляют продуцирование эстрогена в периферических тканях путем блокировки активности ароматазы, которая превращает андроген в эстроген в организме. Однако AI не могут остановить выработку эстрогена яичниками. Поэтому AI в основном применяют для лечения женщин в постменопаузе. Кроме того, поскольку AI более эффективны, чем такой SERM, как тамоксифен, с меньшим количеством серьезных побочных эффектов, AI также можно применять для лечения женщин в пременопаузе с подавленной функцией яичников. См., например, Francis et al., “Adjuvant Ovarian Suppression in Premenopausal Breast Cancer,” *the N. Engl. J. Med.*, 372:436-446 (2015).

[0007] Устойчивость к эндокринной терапии является сложным аспектом ведения пациентов с раком молочной железы, положительным по эстрогеновым рецепторам (ER+). В недавних исследованиях было продемонстрировано, что приобретенная устойчивость может развиваться после лечения ингибиторами ароматазы за счет появления мутаций в гене эстрогенового рецептора 1 (ESR1). Другим механизмом, связанным с развившейся *de novo* и приобретенной устойчивостью, является адаптивная активация параллельных сигнальных путей факторов роста, а также взаимовлияние между такими путями, в том числе путями, которые способствуют экспрессии циклина D1 и активации циклинзависимой киназы 4 (CDK4) и CDK6 (CDK4/6). Хотя первоначальное лечение такими средствами может быть успешным, у многих пациентов в конечном итоге возникает рецидив с развитием устойчивых к лекарственному средству форм рака молочной железы. Как один из возможных механизмов развития такой устойчивости является появление мутаций, затрагивающих ER. См., например, Robinson et al., “Activating ESR1 mutations in hormone-resistant metastatic breast cancer,” *Nat Genet.* 45:1446–51 (2013). Мутации в лиганд-связывающем домене (LBD) ER обнаруживают в 20-40% образцов метастатических ER-положительных опухолей молочной железы, полученных от пациентов, которые получали по меньшей мере одну линию эндокринного лечения. Jeselsohn, et al., “ESR1 mutations—a mechanism for acquired endocrine resistance in breast cancer,” *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 12:573-83 (2015).

[0008] Следовательно, остается потребность в более надежных и эффективных нацеленных на ER средствах терапии для преодоления некоторых недостатков, связанных с современными эндокринными средствами терапии, и для борьбы с развитием устойчивости к CDK4/6.

Краткое раскрытие настоящего изобретения

[0009] Согласно одному аспекту, настоящее изобретение относится к способу ингибирования и ослабления устойчивого к ингибиторам CDK4/6, положительного по эстрогеновому рецептору-альфа рака у субъекта, предусматривающему введение субъекту терапевтически эффективного количества элацестранта или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

[0010] Варианты осуществления данного аспекта настоящего изобретения могут включать один или несколько из представленных далее дополнительных признаков. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к палбоциклибу, рибоциклибу, абемациклибу или их комбинации. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к палбоциклибу. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к рибоциклибу. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к абемациклибу. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак характеризуется одной или несколькими мутациями, выбранными из группы, состоящей из D538G, Y537X₁, L536X₂, P535H, V534E, S463P, V392I, E380Q и их комбинаций, где: X₁ представляет собой S, N или C; а X₂ представляет собой R или Q. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, мутация представляет собой Y537S. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, мутация представляет собой D538G. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к лекарственному средству, выбранному из группы, состоящей из антиэстрогенов, ингибиторов ароматазы и их комбинаций. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак выбран из группы, состоящей из рака молочной железы, рака матки, рака яичников и рака гипофиза. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления,

устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак является раком на поздней стадии или метастатическим раком молочной железы. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак представляет собой рак молочной железы. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, субъектом является женщина в постменопаузе. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, субъектом является женщина в предменопаузе. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, субъектом является женщина в постменопаузе, у которой был рецидив или прогрессирование после предыдущего лечения селективными модуляторами эстрогеновых рецепторов (SERM) и/или ингибиторами ароматазы (AI). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, элацестрант вводят субъекту в дозе от приблизительно 200 мг/сутки до приблизительно 500 мг/сутки. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, элацестрант вводят субъекту в дозе приблизительно 200 мг/сутки, приблизительно 300 мг/сутки, приблизительно 400 мг/сутки или приблизительно 500 мг/сутки. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, элацестрант вводят субъекту в дозе, которая является максимально переносимой дозой для субъекта. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, способ дополнительно предусматривает идентификацию субъекта для лечения путем измерения повышенной экспрессии одного или нескольких генов, выбранных из ABL1, AKT1, AKT2, ALK, APC, AR, ARID1A, ASXL1, ATM, AURKA, BAP, BAP1, BCL2L11, BCR, BRAF, BRCA1, BRCA2, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CDH1, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CEBPA, CTNNA1, DDR2, DNMT3A, E2F3, EGFR, EML4, EPHB2, ERBB2, ERBB3, ESR1, EWSR1, FBXW7, FGF4, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, FRS2, HIF1A, HRAS, IDH1, IDH2, IGF1R, JAK2, KDM6A, KDR, KIF5B, KIT, KRAS, LRP1B, MAP2K1, MAP2K4, MCL1, MDM2, MDM4, MET, MGMT, MLL, MPL, MSH6, MTOR, MYC, NF1, NF2, NKX2-1, NOTCH1, NPM, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PIK3R1, PML, PTEN, PTPRD, RARA, RB1, RET, RICTOR, ROS1, RPTOR, RUNX1, SMAD4, SMARCA4, SOX2, STK11, TET2, TP53, TSC1, TSC2 и VHL. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, один или несколько генов выбраны из AKT1, AKT2, BRAF, CDK4, CDK6, PIK3CA, PIK3R1 и MTOR. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, соотношение концентрации элацестранта или его соли или сольвата в опухоли к концентрации элацестранта или его соли или сольвата в плазме (Т/Р) после введения составляет по меньшей мере приблизительно 15.

[0011] Согласно другому аспекту, настоящее изобретение относится к способу лечения положительного по эстрогеновому рецептору-альфа, устойчивого к ингибиторам

CDK4/6 рака у субъекта, имеющего эстрогеновый рецептор-альфа дикого типа и/или мутантный эстрогеновый рецептор-альфа, причем способ предусматривает введение субъекту терапевтически эффективного количества элацестранта или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, причем мутантный эстрогеновый рецептор-альфа содержит одну или несколько мутаций, выбранных из группы, состоящей из D538G, Y537X₁, L536X₂, P535H, V534E, S463P, V392I, E380Q и их комбинаций, где: X₁ представляет собой S, N или C; а X₂ представляет собой R или Q.

[0012] Варианты осуществления данного аспекта настоящего изобретения могут включать один или несколько из представленных далее дополнительных признаков. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к палбоциклибу, рибоциклибу, абемациклибу или их комбинации. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к палбоциклибу. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к рибоциклибу. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к абемациклибу. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, рак устойчив к лекарственному средству, выбранному из группы, состоящей из антиэстрогенов, ингибиторов ароматазы и их комбинаций. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, антиэстрогены выбраны из группы, состоящей из тамоксифена, торемифена и фулвестранта, а ингибиторы ароматазы выбраны из группы, состоящей из экземестана, летрозола и анастрозола. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак выбран из группы, состоящей из рака молочной железы, рака матки, рака яичников и рака гипофиза. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, рак представляет собой рак на поздних стадиях или метастатический рак молочной железы. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, рак представляет собой рак молочной железы. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, субъектом является женщина в постменопаузе. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, субъектом является женщина в предменопаузе. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, субъектом является женщина в постменопаузе, у которой был рецидив или прогрессирование после предыдущего лечения посредством SERM и/или AI. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, у субъекта экспрессируется по меньшей мере один мутантный

эстрогеновый рецептор-альфа, выбранный из группы, состоящей из D538G, Y537S, Y537N, Y537C, E380Q, S463P, L536R, L536Q, P535H, V392I и V534E. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, мутация включает Y537S. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, мутация включает D538G. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, способ дополнительно предусматривает идентификацию субъекта для лечения путем измерения повышенной экспрессии одного или нескольких генов, выбранных из ABL1, AKT1, AKT2, ALK, APC, AR, ARID1A, ASXL1, ATM, AURKA, BAP, BAP1, BCL2L11, BCR, BRAF, BRCA1, BRCA2, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CDH1, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CEBPA, CTNNB1, DDR2, DNMT3A, E2F3, EGFR, EML4, EPHB2, ERBB2, ERBB3, ESR1, EWSR1, FBXW7, FGF4, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, FRS2, HIF1A, HRAS, IDH1, IDH2, IGF1R, JAK2, KDM6A, KDR, KIF5B, KIT, KRAS, LRP1B, MAP2K1, MAP2K4, MCL1, MDM2, MDM4, MET, MGMT, MLL, MPL, MSH6, MTOR, MYC, NF1, NF2, NKX2-1, NOTCH1, NPM, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PIK3R1, PML, PTEN, PTPRD, RARA, RB1, RET, RICTOR, ROS1, RPTOR, RUNX1, SMAD4, SMARCA4, SOX2, STK11, TET2, TP53, TSC1, TSC2 и VHL. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, один или несколько генов выбраны из AKT1, AKT2, BRAF, CDK4, CDK6, PIK3CA, PIK3R1 и MTOR. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, элацестрант вводят субъекту в дозе от приблизительно 200 до приблизительно 500 мг/сутки. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, элацестрант вводят субъекту в дозе приблизительно 200 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 400 мг или приблизительно 500 мг. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, элацестрант вводят субъекту в дозе приблизительно 300 мг/сутки. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, соотношение концентрации элацестранта или его соли или сольвата в опухоли к концентрации элацестранта или его соли или сольвата в плазме (Т/Р) после введения составляет по меньшей мере приблизительно 15.

[0013] Если не указано иное, все используемые в настоящем документе технические и научные термины имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области техники, к которой принадлежит настоящее изобретение. В настоящем документе описаны способы и материалы для применения в настоящем изобретении; также можно применять и другие подходящие способы и материалы, известные из уровня техники. Материалы, способы и примеры являются лишь иллюстративными и не подразумеваются как ограничивающие. Все публикации, заявки на патенты, патенты, последовательности, записи в базах данных и другие источники, упомянутые в настоящем документе, включены

посредством ссылки во всей своей полноте. В случае противоречия преимущественную силу будет иметь настоящее описание, в том числе определения.

[0014] Другие признаки и преимущества настоящего изобретения станут очевидны из последующего подробного описания и фигур, а также из формулы изобретения.

Краткое описание чертежей

[0015] Представленные далее фигуры приведены в качестве примера и не предназначены для ограничения объема заявляемого изобретения.

[0016] Фиг. 1А. Выработка устойчивости к палбоциклибу у линий клеток LTED с ESR1:дикого типа представлена на графике для линий клеток, чувствительных к палбоциклибу (палбо^S) и устойчивых к палбоциклибу (палбо^R).

[0017] Фиг. 1В. Процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[палбоциклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток палбо^S и палбо^R с ESR1:дикого типа.

[0018] Фиг. 1С. Фотографии результатов анализа образования колоний линий клеток палбо^S и палбо^R с ESR1:дикого типа представлены для контроля и после обработки палбоциклибом (500 нМ).

[0019] Фиг. 1D. Результаты вестерн-блоттинга, иллюстрирующие модели LTED, LTED + палбо, LTED- палбо^R и LTED- палбо^R + палбо, имеющие ген ESR1:дикого типа.

[0020] Фиг. 2А. Выработка устойчивости к палбоциклибу у линий клеток LTED с ESR1:D538G представлена на графике для линий клеток, чувствительных к палбоциклибу (палбо^S) и устойчивых к палбоциклибу (палбо^R).

[0021] Фиг. 2В. Процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[палбоциклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток палбо^S и палбо^R с ESR1:D538G.

[0022] Фиг. 2С. Фотографии результатов анализа образования колоний линий клеток палбо^S и палбо^R с ESR1:D538G представлены для контроля и после обработки палбоциклибом (500 нМ).

[0023] Фиг. 2D. Результаты вестерн-блоттинга, иллюстрирующие модели LTED, LTED + палбо, LTED- палбо^R и LTED- палбо^R + палбо, имеющие мутацию ESR1:D538G.

[0024] Фиг. 3А. Выработка устойчивости к палбоциклибу у линий клеток LTED с ESR1:Y537S представлена на графике для линий клеток, чувствительных к палбоциклибу (палбо^S) и устойчивых к палбоциклибу (палбо^R).

[0025] Фиг. 3В. Процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[палбоциклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток палбо^S и палбо^R с ESR1:Y537S.

[0026] Фиг. 3С. Фотографии результатов анализа образования колоний линий клеток палбо^S и палбо^R с ESR1:Y537S представлены для контроля и после обработки палбоциклибом (500 нМ).

[0027] Фиг. 3D. Результаты вестерн-блоттинга, иллюстрирующие модели LTED, LTED + палбо, LTED- палбо^R и LTED- палбо^R + палбо, имеющие мутацию ESR1:Y537S.

[0028] Фиг. 4А. Выработка устойчивости к рибоциклибу у линий клеток LTED с ESR1:дикого типа представлена на графике для линий клеток, чувствительных к рибоциклибу (рибо^S) и устойчивых к рибоциклибу (рибо^R).

[0029] Фиг. 4В. Выработка устойчивости к абемациклибу у линий клеток LTED с ESR1:дикого типа представлена на графике для линий клеток, чувствительных к абемациклибу (абема^S) и устойчивых к абемациклибу (абема^R).

[0030] Фиг. 4С. Процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[рибоциклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток рибо^S и рибо^R с ESR1:дикого типа.

[0031] Фиг. 4D. Фотографии результатов анализа образования колоний линий клеток рибо^S и рибо^R с ESR1:дикого типа представлены для контроля и после обработки рибоциклибом (500 нМ).

[0032] Фиг. 4Е. Процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[абемациклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток абема^S и абема^R с ESR1:дикого типа.

[0033] Фиг. 4F. Фотографии результатов анализа образования колоний для линий клеток абема^S и абема^R с ESR1:дикого типа представлены для контроля и после обработки абемациклибом (500 нМ).

[0034] Фиг. 5А. Выработка устойчивости к рибоциклибу у линий клеток LTED с ESR1:D538G представлена на графике для линий клеток, чувствительных к рибоциклибу (рибо^S) и устойчивых к рибоциклибу (рибо^R).

[0035] Фиг. 5В. Выработка устойчивости к абемациклибу у линий клеток LTED с ESR1:D538G представлена на графике для линий клеток, чувствительных к абемациклибу (абема^S) и устойчивых к абемациклибу (абема^R).

[0036] Фиг. 5С. Процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[рибоциклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток рибо^S и рибо^R с ESR1:D538G.

[0037] Фиг. 5D. Фотографии результатов анализа образования колоний для линий клеток рибо^S и рибо^R с ESR1:D538G представлены для контроля и после обработки рибоциклибом (500 нМ).

[0038] Фиг. 5E. Процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[абемациклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток абема^S и абема^R с ESR1:D538G.

[0039] Фиг. 5F. Фотографии результатов анализа образования колоний для линий клеток абема^S и абема^R с ESR1:D538G представлены для контроля и после обработки абемациклибом (500 нМ).

[0040] Фиг. 6A. Выработка устойчивости к рибоциклибу у линий клеток LTED с ESR1:Y537S представлена на графике для линий клеток, чувствительных к рибоциклибу (рибо^S) и устойчивых к рибоциклибу (рибо^R).

[0041] Фиг. 6B. Выработка устойчивости к абемациклибу у линий клеток LTED с ESR1:Y537S представлена на графике для линий клеток, чувствительных к абемациклибу (абема^S) и устойчивых к абемациклибу (абема^R).

[0042] Фиг. 6C. Процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[рибоциклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток рибо^S и рибо^R с ESR1:Y537S.

[0043] Фиг. 6D. Фотографии результатов анализа образования колоний линий клеток рибо^S и рибо^R с ESR1:Y537S представлены для контроля и после обработки рибоциклибом (500 нМ).

[0044] Фиг. 6E. Процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[абемациклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток абема^S и абема^R с ESR1:Y537S.

[0045] Фиг. 6F. Фотографии результатов анализа образования колоний для линий клеток абема^S и абема^R с ESR1:Y537S представлены для контроля и после обработки абемациклибом (500 нМ).

[0046] Фиг. 7A. Приведены значения EC₅₀ (нМ), а процент ингибирования роста представлен на графике относительно Log[элацестрант (нМ)] для линии клеток с ESR1:дикого типа, чувствительных к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:дикого типа, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:дикого типа и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:дикого типа.

[0047] Фиг. 7B. Приведены значения EC₅₀ (нМ), а процент ингибирования роста представлен на графике относительно Log[элацестрант (нМ)] для линии клеток с ESR1:D538G, чувствительных к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с

ESR1:D538G, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:D538G и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:D538G.

[0048] Фиг. 7С. Приведены значения EC₅₀ (нМ), а процент ингибирования роста представлен на графике относительно Log[элацестрант (нМ)] для линии клеток с ESR1:Y537S, чувствительных к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:Y537S, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:Y537S и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:Y537S.

[0049] Фиг. 8А. На фотографиях результатов анализа образования колоний в верхнем ряду визуализирован рост контрольной линии клеток с ESR1:дикого типа, чувствительной к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:дикого типа, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:дикого типа и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:дикого типа, в то время как на фотографиях в нижнем ряду визуализирован рост клеток для контрольной линии клеток с ESR1:дикого типа, чувствительных к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:дикого типа, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:дикого типа и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:дикого типа после обработки элацестрантом (300 нМ).

[0050] Фиг. 8В. На фотографиях результатов анализа образования колоний в верхнем ряду визуализирован рост контрольной линии клеток с ESR1:D538G, чувствительной к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:D538G, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:D538G и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:D538G, в то время как на фотографиях в нижнем ряду визуализирован рост клеток для контрольной линии клеток с ESR1:D538G, чувствительных к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:D538G, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:D538G и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:D538G после обработки элацестрантом (300 нМ).

[0051] Фиг. 8С. На фотографиях результатов анализа образования колоний в верхнем ряду визуализирован рост контрольной линии клеток с ESR1:Y537S, чувствительной к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:Y537S, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:Y537A и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:Y537S, в то время как на фотографиях в нижнем ряду визуализирован рост клеток для контрольной линии клеток с ESR1:Y537S, чувствительных к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:Y537S, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:Y537S и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:Y537S после обработки элацестрантом (300 нМ).

[0052] Фиг. 9А. Средние объемы опухоли с течением времени у бестимусных «голых» мышей, которым имплантирован PDX-ксенотрансплантат WHIM43-Н1 с мутацией

ESR1:D538G, которые были подвергнуты обработке контрольной средой, палбоциклибом, фулвестрантом (3 мг/доза) и элацестрантом (30 и 60 мг/кг).

[0053] Фиг. 9B. Результаты количественной оценки уровня белка ER α были получены путем построения графика зависимости ER α /винкулин (нормализованный к контролю) относительно обработки ксенотрансплантатной PDX-модели WHIM43-Н1, имеющей мутацию ESR1:D538G, контрольной средой, палбоциклибом, фулвестрантом (3 мг/доза) и элацестрантом (30 и 60 мг/кг).

[0054] Фиг. 9C. Результаты количественной оценки уровня белка E2F1 были получены путем построения графика зависимости E2F1/винкулин (нормализованный к контролю) относительно обработки ксенотрансплантатной PDX-модели WHIM43-Н1, имеющей мутацию ESR1:D538G, контрольной средой, палбоциклибом, фулвестрантом (3 мг/доза) и элацестрантом (30 и 60 мг/кг).

[0055] Фиг. 9D. Результаты количественной оценки уровня белка CCNE1 были получены путем построения графика зависимости CCNE1/винкулин (нормализованный к контролю) относительно обработки ксенотрансплантатной PDX-модели WHIM43-Н1, имеющей мутацию ESR1:D538G, контрольной средой, палбоциклибом, фулвестрантом (3 мг/доза) и элацестрантом (30 и 60 мг/кг).

[0056] Фиг. 9E. Уровни мРНК PgR определяли путем построения графика кратного изменения (нормализованного к контролю) относительно обработки ксенотрансплантатной PDX-модели WHIM43-Н1, имеющей мутацию ESR1:D538G, контрольной средой, палбоциклибом, фулвестрантом (3 мг/доза) и элацестрантом (30 и 60 мг/кг).

[0057] Фиг. 9F. Представлены результаты вестерн-блоттинга, иллюстрирующие ксенотрансплантатную PDX-модель WHIM43-Н1, имеющую мутацию ESR1:D538G, обработанную контрольной средой, палбоциклибом, фулвестрантом (3 мг/доза) и элацестрантом (30 и 60 мг/кг).

[0058] Фиг. 10A. Результаты количественной оценки прогестеронового рецептора (PgR) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:дикого типа, были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК PgR (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R.

[0059] Фиг. 10B. Результаты количественной оценки фактора «трилистника» 1 (TFF1) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:дикого типа, были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК TFF1 (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R.

[0060] Фиг. 10C. Результаты количественной оценки регулируемого эстрогеном роста (GREB1) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:дикого типа, были

получены путем построения графика зависимости уровней мРНК GREB1 (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R.

[0061] Фиг. 11А. Результаты количественной оценки прогестеронового рецептора (PgR) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:D538G, были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК PgR (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R.

[0062] Фиг. 11В. Результаты количественной оценки фактора «трилистника» 1 (TFF1) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:D538G, были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК TFF1 (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R.

[0063] Фиг. 11С. Результаты количественной оценки регулируемого эстрогеном роста (GREB1) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:D538G, были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК GREB1 (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R.

[0064] Фиг. 12А. Результаты количественной оценки прогестеронового рецептора (PgR) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:Y537S, были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК PgR (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R.

[0065] Фиг. 12В. Результаты количественной оценки фактора «трилистника» 1 (TFF1) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:Y537S, были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК TFF1 (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R.

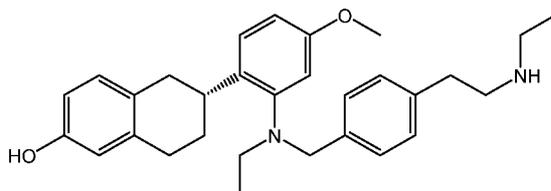
[0066] Фиг. 12С. Результаты количественной оценки регулируемого эстрогеном роста (GREB1) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:Y537S, были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК GREB1 (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R.

[0067] Фиг. 13. На графике представлен объем опухоли ксенотрансплантатной PDX-модели WHIM43-Н1 (ранее не получавшей обработки) в зависимости от суток обработки при обработке модели средой или комбинацией фулвестранта и палбоциклиба (данные для фулвестранта 3 мг/доза взяты из отдельного исследования). Опухоли из группы фулвестранта и палбоциклиба затем были повторно имплантированы в другом исследовании (с обработкой палбоциклибом ST941-Н1; первый пассаж), а затем обработаны средой, фулвестрантом (3 мг/доза), палбоциклибом (25 мг/кг) и элацестрантом (30 мг/кг) с целью демонстрации, что элацестрант все еще эффективен при ингибировании роста

опухоли в PDX-модели, ранее подвергнутой обработке комбинацией фулвестранта и палбоциклиба.

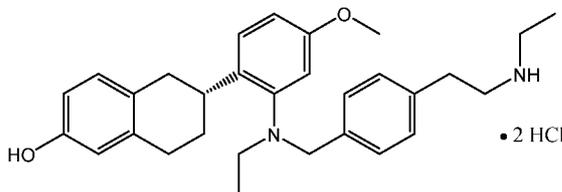
Подробное раскрытие настоящего изобретения

[0068] В контексте настоящего документа элацестрант или «RAD1901» представляет собой перорально биодоступный селективный деструктор эстрогенового рецептора (SERD) и имеет следующую химическую структуру:



Элацестрант

в том числе его соли, сольваты (например, гидрат) и пролекарства. Из доклинических данных было видно, что элацестрант эффективен в ингибировании роста опухоли на моделях ER⁺ рака молочной железы как с ESR1 дикого типа, так и с мутантным ESR1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, описываемый в настоящем документе элацестрант вводят в виде бис-гидрохлоридной соли ($\cdot 2\text{HCl}$), имеющей следующую химическую структуру:



Дигидрохлорид элацестранта.

[0069] У женщин в постменопаузе текущий стандарт лечения ER⁺ форм рака, таких как рак молочной железы, предусматривает ингибирование пути ER посредством: 1) ингибирования синтеза эстрогена (ингибиторами ароматазы (AI)); 2) прямого связывания с ER и модуляции его активности с помощью SERM (например, тамоксифена); и/или 3) прямого связывания с ER и индукции деструкции рецепторов с помощью SERD (например, фулвестранта). У женщин в пременопаузе текущий стандарт лечения дополнительно предусматривает подавление функции яичников посредством овариэктомии или агониста релизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LHRH). Было показано, что добавление ингибитора циклин-зависимой киназы 4/6 (CDK4/6) к эндокринному средству в некоторых случаях примерно в два раза увеличивает период дожития без прогрессирования (PFS), причем такие типы результатов привели к одобрению и применению определенных ингибиторов CDK4/6 в комбинации либо с AI при назначении лечения метастатических

форм терапией первой линии, либо в комбинации с фулвестрантом при назначении лечения метастатических форм терапией второй линии. Данные, из которых видна тенденция ESR1 мутировать и становиться устойчивыми к AI и/или ингибиторам CDK4/6, подчеркивают потребность в новых и улучшенных перорально биодоступных эндокринных средствах терапии, которые обладают эффективностью в отношении ESR1 дикого типа и всех мутантных форм ESR1.

[0070] Добавление ингибитора циклин-зависимой киназы 4/6 (CDK4/6) к эндокринному средству примерно в два раза увеличивает период дожития без прогрессирования (PFS), и это привело к одобрению и применению определенных ингибиторов CDK4/6 в комбинации либо с AI при назначении лечения метастатических форм терапией первой линии, либо в комбинации с фулвестрантом при назначении лечения метастатических форм терапией либо первой, либо второй линии. В описываемых в настоящем документе способах показано, что элацестрант индуцирует дозозависимое долгосрочное ингибирование роста в линиях раковых клеток, устойчивых к ингибиторам CDK4/6, независимо от предыдущего лечения или мутантного статуса ESR1. При использовании элацестранта (30 мг/кг) также наблюдали ингибирование роста опухоли *in vivo* у PDX-моделей, которые ранее были подвергнуты лечению палбоциклибом (>100 суток) и/или у которых *de novo* развилась устойчивость к палбоциклибу. Кроме того, при использовании элацестранта наблюдали ингибирующую активность *in vitro* и *in vivo* у нескольких устойчивых к ингибиторам CDK4/6 моделей, у которых наблюдали несколько молекулярных маркеров устойчивости к ингибиторам CDK4/6, таких как без ограничения утрата Rb, сверхэкспрессия циклина E1, сверхэкспрессия E2F1, сверхэкспрессия циклина D1 и сверхэкспрессия CDK6.

[0071] Было продемонстрировано, что элацестрант (30 мг/кг) подвергает деструкции ER, снижает экспрессию E2F1 и снижает экспрессию циклина E1 у PDX-модели WHIM43-Н1 (устойчивый к палбоциклибу/без Rb). По результатам изучения характеристик устойчивости к ингибиторам CDK4/6 было видно, что у этих устойчивых линий клеток сохраняется ER, передача сигналов с участием ER и, что важно, управляемая ER пролиферация. Следовательно, представленные в настоящем документе результаты проведенных исследований, свидетельствующие об эффективном применении элацестранта в качестве средства лечения при устойчивых к ингибиторам CDK4/6 формах рака, имеющих различные типы мутаций ESR1, являются многообещающими.

Определения

[0072] Если не указано иное, в контексте настоящего документа применяют представленные далее определения.

[0073] Применяемые в настоящем документе термины «RAD1901» и «элацестрант» относятся к одному и тому же химическому соединению и используются взаимозаменяемо.

[0074] «Ингибирование роста» ER α -положительной опухоли в контексте настоящего документа может относиться к замедлению скорости роста опухоли или к полной остановке роста опухоли.

[0075] «Регрессия опухоли» или «регрессия» ER α -положительной опухоли в контексте настоящего документа может относиться к уменьшению максимального размера опухоли. В соответствии с определенными вариантами осуществления, введение описываемой в настоящем документе комбинации или ее сольватов (например, гидрата) или солей может привести в результате к уменьшению размера опухоли по сравнению с исходным уровнем (т. е. размером до начала лечения) или даже к уничтожению или частичному уничтожению опухоли. Следовательно, в соответствии с определенными вариантами осуществления, представленные в настоящем документе способы регрессии опухоли альтернативно можно охарактеризовать как способы уменьшения размера опухоли по сравнению с исходным уровнем.

[0076] «Опухоль» в контексте настоящего документа означает злокачественную опухоль и используется как синоним термину «рак».

[0077] «Эстрогеновый рецептор-альфа» или «ER α » в контексте настоящего документа относится к полипептиду, содержащему, состоящему или фактически состоящему из аминокислотной последовательности ER α дикого типа, которая кодируется геном ESR1.

[0078] Опухоль, которая является «положительной по эстрогеновому рецептору-альфа», «ER α -положительной», «ER+» или «ER α +» в контексте настоящего документа относится к опухоли, в которой одна или несколько клеток экспрессируют по меньшей мере одну изоформу ER α .

Способы лечения

[0079] В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, настоящее изобретение относится к способу ингибирования и ослабления устойчивого к ингибиторам CDK4/6, положительного по эстрогеновому рецептору-альфа рака у субъекта, предусматривающему введение субъекту терапевтически эффективного количества элацестранта или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

[0080] В соответствии с другими вариантами осуществления, настоящее изобретение относится к способу лечения положительного по эстрогеновому рецептору-альфа, устойчивого к ингибиторам CDK4/6 рака у субъекта, имеющего эстрогеновый рецептор-альфа дикого типа и/или мутантный эстрогеновый рецептор-альфа, причем способ предусматривает введение субъекту терапевтически эффективного количества элацестранта или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, причем мутантный эстрогеновый рецептор-альфа содержит одну или несколько мутаций, выбранных из группы, состоящей из D538G, Y537X₁, L536X₂, P535H, V534E, S463P, V392I, E380Q и их комбинаций, где: X₁ представляет собой S, N или C; а X₂ представляет собой R или Q.

Введение элацестранта

[0081] Элацестрант или его сольваты (например, гидрат) или соли при введении субъекту оказывают терапевтическое действие на одну или несколько форм рака или опухолей. Ингибирование или регрессия роста опухоли могут быть локализованы в отдельной опухоли или в группе опухолей в конкретной ткани или в конкретном органе или могут быть системными (т. е. затрагивать опухоли во всех тканях или органах).

[0082] Поскольку известно, что элацестрант предпочтительно связывает ER α , а не эстрогеновый рецептор-бета (ER β), если не указано иное, эстрогеновый рецептор, эстрогеновый рецептор-альфа, ER α , ER и ER α дикого типа используют в настоящем документе взаимозаменяемо. В соответствии с определенными вариантами осуществления, ER⁺ клетки сверхэкспрессируют ER α . В соответствии с определенными вариантами осуществления, у пациента есть одна или несколько клеток в опухоли, экспрессирующих одну или несколько форм ER β . В соответствии с определенными вариантами осуществления, ER α -положительная опухоль и/или ER α -положительный рак связаны с раком молочной железы, матки, яичников или гипофиза. В соответствии с некоторыми из таких вариантов осуществления, у пациента есть опухоль, расположенная в ткани молочной железы, матки, яичника или гипофиза. В соответствии с такими вариантами осуществления, если у пациента есть опухоль, локализованная в молочной железе, опухоль может быть связана с раком протоков молочной железы, который может быть или не быть положительным по HER2, а в случае HER2⁺ опухолей опухоли могут иметь высокий или низкий уровень экспрессии HER2. В соответствии с другими вариантами осуществления, у пациента есть опухоль, локализованная в другой ткани или в другом органе (например, в кости, мышце, головном мозге), но, тем не менее, она связана с раком молочной железы, матки, яичников или гипофиза (например, опухоли, возникшие в результате миграции или метастазирования рака молочной железы, матки, яичников или гипофиза). Следовательно,

в соответствии с определенными вариантами осуществления представленных в настоящем документе способов ингибирования роста опухоли или регрессии опухоли, выступающая в качестве мишени опухоль представляет собой метастатическую опухоль, и/или опухоль имеет сверхэкспрессию ER в других органах (например, костях и/или мышцах). В соответствии с определенными вариантами осуществления, выступающей в качестве мишени опухолью является опухоль и/или рак головного мозга. В соответствии с определенными вариантами осуществления, выступающая в качестве мишени опухоль может быть более чувствительной к лечению элацестрантом, чем лечению другим SERD (например, фулвестрантом, TAS-108 (SR16234), ZK191703, RU58668, GDC-0810 (ARN-810), GW5638/DPC974, SRN-927 и AZD9496), ингибиторами Her2 (например, трастузумабом, лапатинибом, адо-трастузумабом, эмтанзином и/или пертузумабом), средствами химиотерапии (например, абраксаном, адриамицином, карбоплатином, цитоксаном, даунорубицином, доксилом, элленсом, фторурацилом, гемзаром, хелавеном, лксемпрой, метотрексатом, митомицином, микоксантроном, навельбином, таксолом, таксотером, тиотепой, винкристином и кселодой), ингибитором ароматазы (например, анастрозолом, эксместаном и летрозолом), селективными модуляторами эстрогеновых рецепторов (например, тамоксифеном, ралоксифеном, лазофоксифеном и/или торемифеном), ингибитором ангиогенеза (например, бевацизумабом) и/или ритуксимабом.

[0083] Помимо демонстрации способности элацестранта ингибировать опухолевый рост у экспрессирующих ER α дикого типа опухолей, элацестрант характеризуется способностью ингибировать рост опухолей, экспрессирующих мутантную форму ER α , а именно Y537S ER α . Из результатов оценки с помощью компьютерного моделирования примеров мутаций ER α было видно, что ни одна из этих мутаций, как ожидается, не повлияет на LBD или, в частности, не будет затруднять связывание элацестранта, например, с ER α , имеющим одну или несколько мутаций, выбранных из группы, состоящей из ER α с мутацией Y537X, где X представляет собой S, N или C, ER α с мутацией D538G и ER α с мутацией S463P. Исходя из этих результатов, в настоящем документе представлены способы ингибирования роста или достижения регрессии опухоли, которая является положительной по ER α , имеющему одну или несколько мутаций в лиганд-связывающем домене (LBD), выбранных из группы, состоящей из Y537X1, где X1 представляет собой S, N или C, D538G, L536X2, где X2 представляет собой R или Q, P535H, V534E, S463P, V392I, E380Q, особенно Y537S ER α , у субъекта с раком путем введения субъекту терапевтически эффективного количества элацестранта или его сольватов (например, гидрата) или соли. «Мутантный ER α » в контексте настоящего документа относится к ER α , содержащему одну или несколько замен или делеций, и его вариантам, содержащим, состоящим или

фактически состоящим из аминокислотной последовательности по меньшей мере с 80%, по меньшей мере с 85%, по меньшей мере с 90%, по меньшей мере с 95%, по меньшей мере с 97%, по меньшей мере с 98%, по меньшей мере с 99% или по меньшей мере с 99,5% идентичности с аминокислотной последовательностью ER α .

[0084] Помимо ингибирования роста опухоли при раке молочной железы в ксенотрансплантатной модели на животных, элацестрант характеризуется значительным накоплением в опухолевых клетках и способен проникать через гематоэнцефалический барьер. Способность проникать через гематоэнцефалический барьер была подтверждена путем демонстрации того, что введение элацестранта значительно продлевает период дожития у ксенотрансплантатной модели с метастазами в головном мозге. Следовательно, в соответствии с определенными вариантами осуществления представленных в настоящем документе способов ингибирования роста опухоли или регрессии опухоли, выступающая в качестве мишени ER α -положительная опухоль локализована в головном мозге или в другом месте центральной нервной системы. В соответствии с некоторыми из таких вариантов осуществления, ER α -положительная опухоль преимущественно связана с раком головного мозга. В соответствии с другими вариантами осуществления, ER α -положительная опухоль представляет собой метастатическую опухоль, которая преимущественно связана с другим типом рака, таким как рак молочной железы, матки, яичников или гипофиза, или опухоль, которая мигрировала из другой ткани или другого органа. В соответствии с некоторыми из таких вариантов осуществления, опухоль представляет собой метастазы в головном мозге, такие как метастазы рака молочной железы в головном мозге (BCBM). В соответствии с определенными вариантами осуществления раскрываемых в настоящем документе способов, элацестрант или его сольваты (например, гидрат) или соли накапливаются в одной или нескольких клетках в опухоли-мишени.

[0085] В соответствии с определенными вариантами осуществления раскрываемых в настоящем документе способов, элацестрант или его сольваты (например, гидрат) или соли предпочтительно накапливаются в опухоли в соотношении T/P (концентрация элацестранта в опухоли/концентрация элацестранта в плазме) приблизительно 15 или выше, приблизительно 18 или выше, приблизительно 19 или выше, приблизительно 20 или выше, приблизительно 25 или выше, приблизительно 28 или выше, приблизительно 30 или выше, приблизительно 33 или выше, приблизительно 35 или выше или приблизительно 40 или выше.

Доза

[0086] Терапевтически эффективное количество комбинации элацестранта или его сольватов (например, гидрата) или солей для применения в раскрываемых в настоящем документе способах представляет собой количество, которое при введении в течение определенного интервала времени приводит к достижению одного или нескольких терапевтических показателей (например, замедлению или остановке роста опухоли, что приводит в результате к регрессии опухоли, исчезновению симптомов и т. д.). Комбинацию для применения в раскрываемых в настоящем документе способах можно вводить субъекту один раз или несколько раз. В соответствии с такими вариантами осуществления, при введении соединений несколько раз их можно вводить с заданным интервалом, например, раз в сутки, раз в двое суток, раз в неделю или раз в месяц. В качестве альтернативы, их можно вводить с нерегулярным интервалом, например, по мере необходимости, исходя из симптомов, состояния здоровья пациента и т. п. Терапевтически эффективное количество комбинации можно вводить один раз в сутки в течение одних суток, по меньшей мере 2 суток, по меньшей мере 3 суток, по меньшей мере 4 суток, по меньшей мере 5 суток, по меньшей мере 6 суток, по меньшей мере 7 суток, по меньшей мере 10 суток или по меньшей мере 15 суток. Необязательно, статус в отношении рака или регресс опухоли отслеживают во время или после лечения, например, с помощью FES-PET-сканирования субъекта. Дозу вводимой субъекту комбинации можно увеличить или уменьшить в зависимости от статуса в отношении рака или регрессии детектируемой опухоли.

[0087] В идеале, терапевтически эффективное количество не превышает максимально переносимую дозу, при которой 50% или более подвергаемых лечению субъектов испытывают тошноту или другие реакции токсичности, которые препятствуют дальнейшему введению лекарственного средства. Терапевтически эффективное количество может варьировать для субъекта в зависимости от ряда факторов, в том числе разнообразия и степени выраженности симптомов, пола, возраста, массы тела или общего состояния здоровья субъекта, способа введения и типа соли или сольвата, изменения восприимчивости к лекарственному средству, конкретного типа заболевания и т. д.

[0088] Примеры терапевтически эффективных количеств элацестранта или его сольватов (например, гидрата) или солей для применения в раскрываемых в настоящем документе способах включают без ограничения от приблизительно 150 до приблизительно 1500 мг, от приблизительно 200 до приблизительно 1500 мг, от приблизительно 250 до приблизительно 1500 мг или от приблизительно 300 до приблизительно 1500 мг дозы раз в сутки для субъектов, имеющих устойчивые ER-зависимые опухоли или формы рака; от приблизительно 150 до приблизительно 1500 мг, от приблизительно 200 до приблизительно 1000 мг или от приблизительно 250 до приблизительно 1000 мг или от приблизительно 300

до приблизительно 1000 мг дозы раз в сутки для субъектов, имеющих как зависимые от ER дикого типа опухоли и/или формы рака, так и устойчивые опухоли и/или формы рака; и от приблизительно 300 до приблизительно 500 мг, от приблизительно 300 до приблизительно 550 мг, от приблизительно 300 до приблизительно 600 мг, от приблизительно 250 до приблизительно 500 мг, от приблизительно 250 до приблизительно 550 мг, от приблизительно 250 до приблизительно 600 мг, от приблизительно 200 до приблизительно 500 мг, от приблизительно 200 до приблизительно 550 мг, от приблизительно 200 до приблизительно 600 мг, от приблизительно 150 до приблизительно 500 мг, от приблизительно 150 до приблизительно 550 мг или от приблизительно 150 до приблизительно 600 мг дозы раз в сутки для субъектов, имеющих в основном зависимые от ER дикого типа опухоли и/или формы рака. В соответствии с определенными вариантами осуществления, доза соединения формулы I (например, элацестранта) или его соли или сольвата для применения в раскрываемых в настоящем документе способах, универсальных для взрослого субъекта, может составлять приблизительно 200 мг, 400 мг, от 30 мг до 2000 мг, от 100 до 1500 мг или от 150 до 1500 мг перорально в сутки. Такая суточная доза может быть достигнута путем однократного введения или многократного введения.

[0089] Доза элацестранта при лечении рака молочной железы, в том числе устойчивых форм, а также в случаях, экспрессирующих один или несколько мутантных рецепторов, находится в диапазоне от 100 мг до 1000 мг в сутки. Например, элацестрант можно принимать дозой по 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 или 1000 мг в сутки. В частности, следует отметить 200 мг, 400 мг, 500 мг, 600 мг, 800 мг и 1000 мг в сутки. Необычайно длительный период полувыведения элацестранта у людей после перорального приема дозы делает этот вариант особенно заслуживающим внимания. Соответственно, лекарственное средство можно вводить в количестве 200 мг два раза в сутки (всего 400 мг в сутки), 250 мг два раза в сутки (всего 500 мг в сутки), 300 мг два раза в сутки (всего 600 мг в сутки), 400 мг два раза в сутки (800 мг в сутки) или 500 мг два раза в сутки (всего 1000 мг в сутки). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, прием дозы является пероральным.

[0090] В соответствии с определенными вариантами осуществления раскрываемых в настоящем документе способов, элацестрант или его сольват (например, гидрат) или соль предпочтительно накапливаются в опухоли в соотношении Т/Р (концентрация элацестранта в опухоли/концентрация элацестранта в плазме) приблизительно 15 или выше, приблизительно 18 или выше, приблизительно 19 или выше, приблизительно 20 или выше, приблизительно 25 или выше, приблизительно 28 или выше, приблизительно 30 или выше,

приблизительно 33 или выше, приблизительно 35 или выше или приблизительно 40 или выше.

[0091] Элацестрант или его сольваты (например, гидрат) или соли можно вводить субъекту один раз или несколько раз. В соответствии с такими вариантами осуществления, при введении соединений несколько раз их можно вводить с заданным интервалом, например, раз в сутки, раз в двое суток, раз в неделю или раз в месяц. В качестве альтернативы, их можно вводить с нерегулярным интервалом, например, по мере необходимости, исходя из симптомов, состояния здоровья пациента и т. п.

Состав

[0092] В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, элацестрант или его сольваты (например, гидрат) или соли вводят как часть единого состава. Например, элацестрант или его сольваты (например, гидрат) или соли составляют в виде единого драже для перорального введения или в виде разовой дозы для инъекции. В соответствии с определенными вариантами осуществления, введение соединений в виде единого состава улучшает соблюдение пациентом режима и схемы лечения.

[0093] В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, состав, содержащий элацестрант или его сольваты (например, гидрат) или соли, может дополнительно содержать один или несколько фармацевтических наполнителей, носителей, вспомогательных веществ и/или консервантов.

[0094] Элацестрант или его сольваты (например, гидрат) или соли для применения в раскрываемых в настоящем документе способах можно составить в виде единичных лекарственных форм, что означает физически дискретные единицы, подходящие в качестве единичной дозы для субъектов, проходящих лечение, причем каждая единица содержит заданное количество действующего материала, рассчитанное для получения требуемого терапевтического эффекта, необязательно в сочетании с подходящим фармацевтическим носителем. Единичная лекарственная форма может предназначаться для однократной суточной дозы или одной из нескольких доз, составляющих суточную дозу (например, приблизительно от 1 до 4 или более раз в сутки). При применении нескольких доз, составляющих суточную дозу, единичная лекарственная форма может быть одинаковой или различной для каждой дозы. В соответствии с определенными вариантами осуществления, соединения можно составить для контролируемого высвобождения.

[0095] Элацестрант или его сольваты (например, гидрат) или соли и соли или сольваты для применения в раскрываемых в настоящем документе способах можно составить в соответствии с любым доступным традиционным способом. Примеры

предпочтительных лекарственных форм включают таблетку, порошок, мелкую гранулу, гранулу, таблетку с покрытием, капсулу, сироп, пастилку, средство для ингаляции, суппозиторий, инъекционный препарат, мазь, глазную мазь, глазные капли, капли в нос, ушные капли, средство для горячего компресса, лосьон и др. В составе можно применять такие обычно используемые добавки, как разбавитель, связующее, разрыхлитель, смазывающее вещество, краситель, ароматизатор и, при необходимости, стабилизатор, эмульгатор, усилитель абсорбции, поверхностно-активное вещество, регулятор pH, антисептик, антиоксидант и др. Кроме того, приготовление состава также осуществляют в соответствии с общепринятыми способами путем объединения композиций, которые обычно применяют в качестве сырья для приготовления фармацевтического состава. Примеры данных композиций включают, например, (1) масло, такое как соевое масло, говяжий жир и синтетический глицерид; (2) углеводород, такой как жидкий парафин, сквалан и твердый парафин; (3) сложноэфирное масло, такое как октилдодецилмиристиновая кислота и изопропилмиристиновая кислота; (4) высший спирт, такой как цетостеариловый спирт и бегениловый спирт; (5) силиконовую смолу; (6) силиконовое масло; (7) поверхностно-активное вещество, такое как сложный эфир полиоксиэтилена и жирной кислоты, сложный эфир сорбитана и жирной кислоты, сложный эфир глицерина и жирной кислоты, сложный эфир полиоксиэтилensorбитана и жирной кислоты, твердое полиоксиэтиленовое касторовое масло и блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена; (8) водорастворимую макромолекулу, такую как гидроксипропилцеллюлоза, полиакриловая кислота, карбоксивиниловый полимер, полиэтиленгликоль, поливинилпирролидон и метилцеллюлоза; (9) низший спирт, такой как этанол и изопропанол; (10) многовалентный спирт, такой как глицерин, пропиленгликоль, дипропиленгликоль и сорбит; (11) сахар, такой как глюкоза и тростниковый сахар; (12) неорганический порошок, такой как безводная кремниевая кислота, алюмосиликат магния и силикат алюминия; и (13) очищенную воду и др. Добавки для применения в вышеуказанных составах могут включать, например, 1) лактозу, кукурузный крахмал, сахарозу, глюкозу, маннит, сорбит, кристаллическую целлюлозу и диоксид кремния в качестве разбавителя; 2) поливиниловый спирт, простой поливиниловый эфир, метилцеллюлозу, этилцеллюлозу, аравийскую камедь, трагакант, желатин, шеллак, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, поливинилпирролидон, блок-сополимер полипропиленгликоля и полиоксиэтилена, меглумин, цитрат кальция, декстрин, пектин и тому подобное в качестве связующего; 3) крахмал, агар, желатиновый порошок, кристаллическую целлюлозу, карбонат кальция, бикарбонат натрия, цитрат кальция, декстрин, пектиновую кислоту, карбоксиметилцеллюлозу/кальция и тому

подобное в качестве разрыхлителя; 4) стеарат магния, тальк, полиэтиленгликоль, диоксид кремния, конденсированное растительное масло и тому подобное в качестве смазывающего вещества; 5) любые красители, добавление которых в качестве красителя является приемлемым с фармацевтической точки зрения; 6) какао-порошок, ментол, ароматизатор, масло мяты перечной, порошок корицы в качестве ароматизатора; и 7) антиоксиданты, добавление которых является приемлемым с фармацевтической точки зрения, такие как аскорбиновая кислота или альфа-тофенол.

[0096] Элацестрант или его сольваты (например, гидрат) или соли для применения в настоящем раскрываемых способах можно включить в фармацевтическую композицию в виде любого одного или нескольких описываемых в настоящем документе действующих соединений, а также можно включить физиологически приемлемый носитель (также называемый фармацевтически приемлемым носителем, или раствором, или разбавителем). Такие носители и растворы включают фармацевтически приемлемые соли и сольваты соединений, применяемых в способах по настоящему изобретению, и смеси, содержащие два или более таких соединений, фармацевтически приемлемых солей таких соединений и фармацевтически приемлемых сольватов таких соединений. Такие композиции готовят в соответствии с приемлемыми фармацевтическими процедурами, такими как описанные в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th edition, ed. Alfonso R. Gennaro, Mack Publishing Company, Eaton, Pa. (1985), которая включена в настоящий документ посредством ссылки.

[0097] Термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к носителю, который не вызывает аллергической реакции или другого неблагоприятного эффекта у пациентов, которым его вводят, и совместим с другими ингредиентами в составе. К фармацевтически приемлемым носителям относятся, например, фармацевтические разбавители, наполнители или носители, предпочтительно выбранные с учетом предполагаемой формы введения и согласующиеся с общепринятыми фармацевтическими практиками. Например, к твердым носителям/разбавителям относятся без ограничения камедь, крахмал (например, кукурузный крахмал, клейстеризованный крахмал), сахар (например, лактоза, маннит, сахароза, декстроза), целлюлозный материал (например, микрокристаллическая целлюлоза), акрилат (например, полиметилакрилат), карбонат кальция, оксид магния, тальк или их смеси. Фармацевтически приемлемые носители могут дополнительно содержать небольшие количества вспомогательных веществ, таких как смачивающие или эмульгирующие средства, консерванты или буферы, которые увеличивают срок хранения или эффективность терапевтического средства.

[0098] Элацестрант или его сольваты (например, гидрат) или соли в свободной форме превратить в соль можно при помощи традиционных способов. Термин «соль» в

контексте настоящего документа не ограничен при условии, что соль образована с элацестрантом или его сольватами (например, гидратом) или солями и является фармакологически приемлемой; предпочтительные примеры солей включают гидрогалогенидную соль (например, гидрохлорид, гидробромид, гидроиодид и т. п.), соль неорганической кислоты (например, сульфат, нитрат, перхлорат, фосфат, карбонат, бикарбонат и т. п.), органическую карбоксилатную соль (например, ацетатную соль, малеатную соль, тартратную соль, фумаратную соль, цитратную соль и т. п.), органическую сульфонатную соль (например, метансульфонатную соль, этансульфонатную соль, бензолсульфонатную соль, толуолсульфонатную соль, камфорсульфонатную соль и т. п.), соль аминокислоты (например, соль аспартата, соль глутамата и т. п.), соль четвертичного аммония, соль щелочного металла (например, натриевую соль, калиевую соль и т. п.), соль щелочноземельного металла (магниевую соль, кальциевую соль и т. п.) и т. п. Кроме того, в качестве «фармакологически приемлемой соли» соединений согласно настоящему изобретению предпочтительными являются гидрохлоридная соль, сульфатная соль, метансульфонатная соль, ацетатная соль и т. п.

[0099] Изомеры элацестрата или его сольватов (например, гидрата) или солей (например, геометрические изомеры, оптические изомеры, ротамеры, таутомеры и т. п.) можно очистить с помощью общих средств разделения, в том числе, например, перекристаллизации, оптического разделения, такого как способ диастереомерных солей, способ ферментного фракционирования, различные хроматографии (например, тонкослойная хроматография, колоночная хроматография, хроматография на стеклянной колонке и т. п.), с получением отдельного изомера. Термин «отдельный изомер» в настоящем документе включает не только изомер, имеющий чистоту 100%, но также изомер, содержащий отличный от целевого изомер, который присутствует даже после традиционной операции очистки. Для элацестранта или его сольватов (например, гидрата) или солей и/или фулвестранта иногда существует кристаллический полиморф, и в настоящее изобретение включены все их кристаллические полиморфы. Кристаллический полиморф иногда является единственным, а иногда представлен в виде смеси, и в настоящий документ включены как первый, так и вторая.

[00100] В соответствии с определенными вариантами осуществления, элацестрант или его сольваты (например, гидрат) или соли могут находиться в форме пролекарства, что означает, что оно должно претерпеть некоторые изменения (например, окисление или гидролиз) для достижения своей активной формы. В качестве альтернативы, элацестрант или его сольваты (например, гидрат) или соли могут представлять собой соединение, полученное путем преобразования исходного пролекарства в его активную форму.

Путь введения

[00101] К путям введения элацестранта или его сольватов (например, гидрата) или солей относятся без ограничения местное введение, пероральное введение, внутривенное введение, внутримышечное введение, внутривенное введение, интравезикальная инфузия, подкожное введение, трансдермальное введение и чресслизистое введение. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, путь введения является пероральным.

Генное профилирование

[00102] В соответствии с определенными вариантами осуществления, способы ингибирования роста опухоли или регрессии опухоли, представленные в настоящем документе, дополнительно предусматривают генное профилирование субъекта, причем подлежащий профилированию ген представляет собой один или несколько генов, выбранных из группы, состоящей из ABL1, AKT1, AKT2, ALK, APC, AR, ARID1A, ASXL1, ATM, AURKA, BAP, BAP1, BCL2L11, BCR, BRAF, BRCA1, BRCA2, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CDH1, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CEVPA, CTNNB1, DDR2, DNMT3A, E2F3, EGFR, EML4, EPHB2, ERBB2, ERBB3, ESR1, EWSR1, FBXW7, FGF4, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, FRS2, HIF1A, HRAS, IDH1, IDH2, IGF1R, JAK2, KDM6A, KDR, KIF5B, KIT, KRAS, LRP1B, MAP2K1, MAP2K4, MCL1, MDM2, MDM4, MET, MGMT, MLL, MPL, MSH6, MTOR, MYC, NF1, NF2, NKX2-1, NOTCH1, NPM, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PIK3R1, PML, PTEN, PTPRD, RARA, RB1, RET, RICTOR, ROS1, RPTOR, RUNX1, SMAD4, SMARCA4, SOX2, STK11, TET2, TP53, TSC1, TSC2 и VHL. В соответствии с другими вариантами осуществления, подлежащий профилированию ген представляет собой один или несколько генов, выбранных из группы, состоящей из AKT1, AKT2, BRAF, CDK4, CDK6, PIK3CA, PIK3R1 и MTOR.

[00103] В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, настоящее изобретение относится к способу лечения субпопуляции пациентов с раком молочной железы, причем указанная субпопуляция характеризуется повышенной экспрессией одного или нескольких генов, раскрытых выше, и лечения указанной субпопуляции эффективной дозой элацестранта или его сольватов (например, гидрата) или солей в соответствии с описываемыми в настоящем раскрытии вариантами осуществления приема доз.

Корректировка дозы

[00104] Помимо установления способности элацестранта ингибировать рост опухоли элацестрант ингибирует связывание эстрадиола с ER в матке и гипофизе. В данных экспериментах связывание эстрадиола с ER в ткани матки и гипофиза оценивали с помощью FES-PET-визуализации. После обработки элацестрантом наблюдаемый уровень связывания ER был на уровне фонового или ниже. Такие результаты указывают на то, что антагонистический эффект элацестранта на активность ER можно оценить с помощью сканирования в режиме реального времени. Исходя из таких результатов, настоящее изобретение относится к способам отслеживания эффективности лечения элацестрантом или его сольватами (например, гидратом) или солями в раскрываемой в настоящем документе комбинированной терапии путем измерения связывания эстрадиола с ER в одной или нескольких целевых тканях, причем уменьшение или исчезновение связывания указывает на эффективность.

[00105] Кроме того, настоящее изобретение относится к способам корректировки дозы элацестранта или его сольватов (например, гидрата) или солей в раскрываемой в настоящем документе комбинированной терапии, исходя из связывания эстрадиола с ER. В соответствии с определенными вариантами осуществления таких способов, связывание измеряют в один и тот же момент времени после одного или нескольких введений первой дозы соединения. Если связывание эстрадиола с ER не нарушено или наблюдается его снижение ниже заданного порога (например, снижение связывания по сравнению с исходным уровнем, которое меньше на 5%, меньше на 10%, меньше на 20%, меньше на 30% или меньше на 50%), первую дозу считают слишком низкой. В соответствии с определенными вариантами осуществления, такие способы предусматривают дополнительную стадию введения увеличенной второй дозы соединения. Такие стадии можно повторять, периодически увеличивая дозу до тех пор, пока не будет достигнуто требуемое снижение связывания эстрадиола с ER. В соответствии с определенными вариантами осуществления, такие способы могут быть включены в представленные в настоящем документе способы ингибирования роста опухоли. В таких способах связывание эстрадиола с ER может служить индикатором ингибирования роста опухоли или дополнительным средством оценки ингибирования роста. В соответствии с другими вариантами осуществления, такие способы можно применять в сочетании с введением элацестранта или его сольватов (например, гидрата) или солей с целью, отличной от ингибирования роста опухоли, в том числе, например, ингибирования пролиферации раковых клеток.

[00106] В соответствии с определенными вариантами осуществления, представленные в настоящем документе способы корректировки дозы элацестранта или его соли или сольвата (например, гидрата) в комбинированной терапии предусматривают:

(1) введение первой дозы элацестранта или его соли или сольвата (например, гидрата) (например, от приблизительно 350 до приблизительно 500 или от приблизительно 200 до приблизительно 600 мг/сутки) в течение 3, 4, 5, 6 или 7 суток;

(2) детекцию активности связывания эстрадиола с ER; причем:

(i) если активность связывания ER не поддается детекции или ниже заданного порогового уровня, продолжение введения первой дозы (т. е. поддержание уровня дозы); или

(ii) если активность связывания ER поддается детекции или превышает заданный пороговый уровень, введение второй дозы, которая больше, чем первая доза (например, первая доза плюс от приблизительно 50 до приблизительно 200 мг) в течение 3, 4, 5, 6 или 7 суток, затем переход к стадии (3);

(3) детекцию активности связывания эстрадиола с ER; причем:

(i) если активность связывания ER не поддается детекции или ниже заданного порогового уровня, продолжение введения второй дозы (т. е. поддержание уровня дозы); или

(ii) если активность связывания ER поддается детекции или превышает заданный пороговый уровень, введение третьей дозы, которая больше, чем вторая доза (например, вторая доза плюс от приблизительно 50 до приблизительно 200 мг) в течение 3, 4, 5, 6 или 7 суток, затем переход к стадии (4);

(4) повторение вышеуказанных стадий до четвертой дозы, пятой дозы и т. д. до тех пор, пока не будет детектировано отсутствие активности связывания ER.

[00107] В соответствии с определенными вариантами осуществления, настоящее изобретение относится к применению PET-визуализации для детекции и/или лечения определенными дозами чувствительных к ER или устойчивых к ER форм рака.

[00108] Представленные ниже примеры приведены для лучшей иллюстрации заявляемого изобретения и не должны интерпретироваться как ограничивающие объем настоящего изобретения. В тех случаях, когда упомянуты конкретные материалы, они упомянуты лишь с целью иллюстрации и не предназначены для ограничения настоящего изобретения. Специалист в настоящей области техники сможет разработать эквивалентные средства или реагенты без использования изобретательского подхода и без выхода за пределы объема настоящего изобретения. Будет понятно, что в описанные в настоящем документе процедуры можно внести множество изменений, оставаясь при этом в рамках

настоящего изобретения. По задумке авторов настоящего изобретения, все такие варианты включены в объем настоящего изобретения.

Примеры

Материалы и способы

Тестируемые соединения

[00109] Элацестрант, применяемый в приведенных ниже примерах, представлял собой (6R)-6-(2-(N-(4-(2-(этиламино)этил)бензил)-N-этиламино)-4-метоксифенил)-5,6,7,8-тетрагидронафталин-2-ола дигидрохлорид, производимый, например, компанией IRIX Pharmaceuticals, Inc. (Флоренция, Южная Каролина). Элацестрант хранили в виде сухого порошка, составленного для применения в виде гомогенной суспензии в 0,5% (мас./об.) метилцеллюлозе в деионизированной воде, и в случае животных моделей его вводили перорально. Тамоксифен, ралоксифен и эстрадиол (E2) приобретали у Sigma-Aldrich (Сент-Луис, Миссури) и вводили подкожной инъекцией. Фулвестрант приобретали у Tocris Biosciences (Миннеаполис, Миннесота) и вводили путем подкожной инъекции. Если не указано иное, остальные лабораторные реагенты были приобретены у Sigma-Aldrich.

Выработка устойчивости к ингибиторам CDK4/6

In vitro

[00110] Клетки HCC1428-LTED-CDK4/6^R, MCF7-Y537S-CDK4/6^R и MCF7-D538G-CDK4/6^R получали путем воздействия на клетки HCC1428-LTED возрастающими концентрациями соответствующих CDK4/6i при текущем поддержании этих клеток в условиях 500 нМ палбоциклиба и рибоциклиба в случае клеток Палбо^R и Рибо^R соответственно и 250 нМ абемациклиба в случае клеток Абема^R.

In vivo

[00111] Фрагменты ксенотрансплантата, полученного от пациента ST941-III, имплантировали бестимусным «голым» мышам. Опухоли измеряли дважды в неделю штангенциркулем с нониусом; объемы рассчитывали по формуле: $(L \cdot W^2) \cdot 0,5$. Опухоли обрабатывали средой, фулвестрантом (3 мг/доза в неделю) + палбоциклибом (25 мг/кг в сутки) и RAD1901 (30 мг/кг в сутки). Опухолям, растущим в присутствии фулвестранта (3 мг/доза в неделю) + палбоциклиба (25 мг/кг в сутки), позволяли вырасти до размера >1500 мм³, а затем собирали и повторно трансплантировали новой когорте мышей, что принимали за пассаж (P1).

PDX-модели

[00112] Опухоли пересаживали в виде фрагментов бестимусным «голым» мышам (Nu (NCR)-Foxn1nu). Полученные от пациента WHIM43 фрагменты ксенотрансплантата имплантировали мышам после овариэктомии без добавления эстрадиола (Horizon). Всех мышей содержали в стерильном помещении, в индивидуально вентилируемых клетках со стерилизованными и беспыльными кукурузными подстилками, с неограниченным доступом к стерилизованной пище и воде, в условиях цикла смены дня и ночи (12-14-часовой циркадный цикл искусственного освещения) и при контролируемой комнатной температуре и влажности. Опухоли измеряли дважды в неделю штангенциркулем с нониусом; объемы рассчитывали по формуле: $(L*W^2)*0,52$. Элацестрант и палбоциклиб вводили перорально каждые сутки в течение всего периода исследования. Фулвестрант вводили подкожно один раз в неделю.

Количественная ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR)

Ксенотрансплантатные модели *in vivo*

[00113] Опухоли в конце исследования измельчали с помощью импактора cryoPREP™ (Covaris), а общую РНК экстрагировали с помощью мини-набора RNeasy (Qiagen). qPCR проводили с применением мастер-микса Taqman Fast Virus 1-Step Master Mix и зондов TaqMan™ (Applied Biosystems). Значения Ct с помощью способа 2-ΔΔCT анализировали для оценки относительных изменений экспрессии мРНК PgR (прогестеронового рецептора) с GAPDH в качестве внутреннего контроля.

Ксенотрансплантатные модели *in vitro*

[00114] В конце обработки клетки лизировали лизирующим буфером из 1-стадийного набора Cells-to-Ct, а лизаты обрабатывали в соответствии с инструкциями производителя. qPCR проводили с использованием 1-стадийного мастер-микса и зондов TaqMan™ (Applied Biosystems). Значения Ct с помощью способа 2-ΔΔCT анализировали для оценки относительных изменений экспрессии мРНК PgR (прогестеронового рецептора), мРНК tff1 (фактора 1 «трилистника») и мРНК GREB1 (регулируемого эстрогеном роста) с GAPDH в качестве внутреннего контроля.

Анализ пролиферации

[00115] Клетки высевали с плотностью 5000 клеток/лунка и на следующие сутки обрабатывали соответствующими схемами обработками. Жизнеспособность измеряли спустя 7 суток инкубации с лекарственным средством, а данные нормализовали к

контрольным значениям, принятым за 100%. Данные представлены в виде графика % ингибирования роста по сравнению с контролем на 7-е сутки.

Анализ образования колоний

[00116] Клетки высевали с плотностью 1000-10000 клеток/лунка и позволяли им расти в течение 2-5 недель в зависимости от линии клеток. Процедуры проводили в трех повторностях; среду и соединение заменяли еженедельно. В конце цикла обработки клетки фиксировали в параформальдегиде и окрашивали кристаллическим фиолетовым для визуализации.

Вестерн-блоттинг

[00117] Клетки или опухоли собирали после введения дозы и анализировали экспрессию белка с помощью стандартной практики, а антитела анализировали согласно следующему порядку: ERa, PR, E2F1, CCNE1, CCNE2, CCND1, Rb, pRb, CDK2, CDK4, CDK6 (Cell Signaling Technologies, кат. № 13258; № 3153; № 3742, № 4129, № 4132, № 2978, № 9309, № 8516, № 2546, № 12790, № 13331), p107, p130 (Abcam: ab168458, ab6545) и винкулин: Sigma-Aldrich, № v9131. Экспрессию белка количественно оценивали с помощью программного обеспечения AzureSpot и нормализовали к экспрессии винкулина. Дифференциальные эффекты палбоциклиба на чувствительные и устойчивые линии исследовали путем обработки обеих линий посредством 500 нМ палбоциклиба в течение 24 часов и сравнения с их относительными контролями. Эффект элацестранта, фулвестранта и палбоциклиба *in vivo* изучали в конце исследования опухолей, которые собирали через 4 часа после приема последней дозы.

Примеры

[00118] Обратимся теперь к фиг. 1A-1D, где представлено создание и характеристики устойчивых к палбоциклибу моделей на фоне ESR1 дикого типа и мутантного ESR1. На фиг. 1A устойчивость к палбоциклибу у созданных линий клеток LTED с ESR1:дикого типа представлена на графике для линий клеток, чувствительных к палбоциклибу (палбо^S) и устойчивых к палбоциклибу (палбо^R). На фиг. 1B процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[палбоциклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток палбо^S и палбо^R с ESR1:дикого типа. На фиг. 1C фотографии результатов анализа образования колоний линий клеток палбо^S и палбо^R с ESR1:дикого типа представлены для контроля и после обработки палбоциклибом (500 нМ). На фиг. 1D результаты вестерн-блоттинга проиллюстрированы для

моделей LTED, LTED + палбо, LTED- палбо^R и LTED- палбо^R + палбо, имеющих ген ESR1:дикого типа.

[00119] Обратимся теперь к фиг. 2A-2D, где представлено создание и характеристики устойчивых к палбоциклибу моделей на фоне ESR1 дикого типа и мутантного ESR1. На фиг. 2A выработка устойчивости к палбоциклибу у созданных линий клеток LTED с ESR1:D538G представлена на графике для линий клеток, чувствительных к палбоциклибу (палбо^S) и устойчивых к палбоциклибу (палбо^R). На фиг. 2B процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[палбоциклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток палбо^S и палбо^R с ESR1:D538G. На фиг. 2C фотографии результатов анализа образования колоний линий клеток палбо^S и палбо^R с ESR1:D538G представлены для контроля и после обработки палбоциклибом (500 нМ). На фиг. 2D результаты вестерн-блоттинга проиллюстрированы для моделей LTED, LTED + палбо, LTED- палбо^R и LTED- палбо^R + палбо, имеющих мутацию ESR1:D538G.

[00120] Обратимся теперь к фиг. 3A-3D, где представлено создание и характеристики устойчивых к палбоциклибу моделей на фоне ESR1 дикого типа и мутантного ESR1. На фиг. 3A выработка устойчивости к палбоциклибу у созданных линий клеток LTED с ESR1:Y537S представлена на графике для линий клеток, чувствительных к палбоциклибу (палбо^S) и устойчивых к палбоциклибу (палбо^R). На фиг. 3B процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[палбоциклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток палбо^S и палбо^R с ESR1:Y537S. На фиг. 3C для контроля и после обработки палбоциклибом (500 нМ) представлены фотографии анализа образования колоний линии клеток палбо^S и палбо^R с ESR1:Y537S. На фиг. 3D результаты вестерн-блоттинга проиллюстрированы для моделей LTED, LTED + палбо, LTED- палбо^R и LTED- палбо^R + палбо, имеющих мутацию ESR1:Y537S.

[00121] Обратимся теперь к фиг. 4A-4F, где представлено создание и характеристики устойчивых к рибоциклибу и абемациклибу моделей на фоне ESR1 дикого типа и мутантного ESR1. На фиг. 4A устойчивость к рибоциклибу у созданных линий клеток LTED с ESR1:дикого типа представлена на графике для линий клеток, чувствительных к рибоциклибу (рибо^S) и устойчивых к рибоциклибу (рибо^R). На фиг. 4B устойчивость к абемациклибу у созданных линий клеток LTED с ESR1:дикого типа представлена на графике для линий клеток, чувствительных к абемациклибу (абема^S) и устойчивых к абемациклибу (абема^R). На фиг. 4C процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[рибоциклиб(мкМ)] представлен на

графике для линий клеток рибо^S и рибо^R с ESR1:дикого типа. На фиг. 4D фотографии результатов анализа образования колоний линий клеток рибо^S и рибо^R с ESR1:дикого типа представлены для контроля и после обработки рибоциклибом (500 нМ). На фиг. 4E процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[абемациклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток абема^S и абема^R с ESR1:дикого типа. На фиг. 4F фотографии результатов анализа образования колоний для линий клеток абема^S и абема^R с ESR1:дикого типа представлены для контроля и после обработки абемациклибом (500 нМ).

[00122] Обратимся теперь к фиг. 5A-5F, где представлено создание и характеристики устойчивых к рибоциклибу и абемациклибу моделей на фоне ESR1 дикого типа и мутантного ESR1. На фиг. 5A устойчивость к рибоциклибу у созданных линий клеток LTED с ESR1:D538G представлена на графике для линий клеток, чувствительных к рибоциклибу (рибо^S) и устойчивых к рибоциклибу (рибо^R). На фиг. 5B устойчивость к абемациклибу у созданных линий клеток LTED с ESR1:D538G представлена на графике для линий клеток, чувствительных к абемациклибу (абема^S) и устойчивых к абемациклибу (абема^R). На фиг. 5C процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[рибоциклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток рибо^S и рибо^R с ESR1:D538G. На фиг. 5D фотографии результатов анализа образования колоний для линий клеток рибо^S и рибо^R с ESR1:D538G представлены для контроля и после обработки рибоциклибом (500 нМ). На фиг. 5E процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[абемациклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток абема^S и абема^R с ESR1:D538G. На фиг. 5F фотографии результатов анализа образования колоний для линий клеток абема^S и абема^R с ESR1:D538G представлены для контроля и после обработки абемациклибом (500 нМ).

[00123] Обратимся теперь к фиг. 6A-6F, где представлено создание и характеристики устойчивых к рибоциклибу и абемациклибу моделей на фоне ESR1 дикого типа и мутантного ESR1. На фиг. 6A устойчивость к рибоциклибу у созданных линий клеток LTED с ESR1:Y537S представлена на графике для линий клеток, чувствительных к рибоциклибу (рибо^S) и устойчивых к рибоциклибу (рибо^R). На фиг. 6B устойчивость к абемациклибу у созданных линий клеток LTED с ESR1:Y537S представлена на графике для линий клеток, чувствительных к абемациклибу (абема^S) и устойчивых к абемациклибу (абема^R). На фиг. 6C процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[рибоциклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток рибо^S и рибо^R с ESR1:Y537S. На фиг. 6D фотографии результатов анализа образования колоний для

линий клеток рибо^S и рибо^R с ESR1:Y537S представлены для контроля и после обработки рибоциклибом (500 нМ). На фиг. 6Е процент ингибирования роста (нормализованный к контролю, принятому за 100%) по отношению к Log[абемациклиб(мкМ)] представлен на графике для линий клеток абема^S и абема^R с ESR1:Y537S. На фиг. 6F фотографии результатов анализа образования колоний для линий клеток абема^S и абема^R с ESR1:Y537S представлены для контроля и после обработки абемациклибом (500 нМ).

[00124] Обратимся теперь к фиг. 7А-7С, для элацестранта наблюдали дозозависимое ингибирование роста опухоли и регрессию опухоли независимо от предыдущего лечения или мутантного статуса ESR1. На фиг. 7А приведены значения EC₅₀ (нМ), а процент ингибирования роста представлен на графике относительно Log[элацестрант (нМ)] для линии клеток с ESR1:дикого типа, чувствительных к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:дикого типа, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:дикого типа и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:дикого типа. На фиг. 7В приведены значения EC₅₀ (нМ), а процент ингибирования роста представлен на графике относительно Log[элацестрант (нМ)] для линии клеток с ESR1:D538G, чувствительных к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:D538G, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:D538G и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:D538G. На фиг. 7С приведены значения EC₅₀ (нМ), а процент ингибирования роста представлен на графике относительно Log[элацестрант (нМ)] для линии клеток с ESR1:Y537S, чувствительных к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:Y537S, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:Y537S и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:Y537S.

[00125] Обратимся теперь к фиг. 8А-8С, для элацестранта наблюдали долгосрочное ингибирование роста линий клеток, устойчивых к ингибиторам CDK4/6. На фиг. 8А представлены фотографии анализа образования колоний, на которых в верхнем ряду визуализируют рост контрольной линии клеток с ESR1:дикого типа, чувствительной к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:дикого типа, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:дикого типа и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:дикого типа, в то время как на фотографиях в нижнем ряду визуализирован рост клеток для контрольной линии клеток с ESR1:дикого типа, чувствительных к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:дикого типа, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:дикого типа и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:дикого типа после обработки элацестрантом (300 нМ). На фиг. 8В представлены фотографии анализа образования колоний, на которых в верхнем ряду визуализирован рост контрольной линии клеток с ESR1:D538G, чувствительной к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:D538G, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:D538G и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:D538G, в то время как

на фотографиях в нижнем ряду визуализирован рост клеток для контрольной линии клеток с ESR1:D538G, чувствительных к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:D538G, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:D538G и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:D538G после обработки элацестрантом (300 нМ). На фиг. 8С представлены фотографии анализа образования колоний, на которых в верхнем ряду визуализирован рост контрольной линии клеток с ESR1:Y537S, чувствительной к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:Y537S, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:Y537A и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:Y537S, в то время как на фотографиях в нижнем ряду визуализирован рост клеток для контрольной линии клеток с ESR1:Y537S, чувствительных к ингибиторам CDK4/6, линии клеток палбоциклиб^R с ESR1:Y537S, линии клеток рибоциклиб^R с ESR1:Y537S и линии клеток абемациклиб^R с ESR1:Y537S после обработки элацестрантом (300 нМ).

[00126] Обратимся теперь к фиг. 9А-9F, для элацестранта наблюдали ингибирование роста нечувствительной к палбоциклибу PDX-модели. На фиг. 9А представлены средние объемы опухоли с течением времени у бестимусных «голых» мышей, которым имплантирован PDX-ксенотрансплантат WHIM43 с мутацией ESR1:D538G, которые были подвергнуты обработке контрольной средой, палбоциклибом, фулвестрантом (3 мг/доза) и элацестрантом (30 и 60 мг/кг). На фиг. 9В представлены результаты количественной оценки уровня белка ER α , которые были получены путем построения графика зависимости ER α /винкулин (нормализованный к контролю) относительно обработки ксенотрансплантатной PDX-модели WHIM43, имеющей мутацию ESR1:D538G, контрольной средой, палбоциклибом, фулвестрантом (3 мг/доза) и элацестрантом (30 и 60 мг/кг). На фиг. 9С представлены результаты количественной оценки уровня белка E2F1, которые были получены путем построения графика зависимости E2F1/винкулин (нормализованный к контролю) относительно обработки ксенотрансплантатной PDX-модели WHIM43, имеющей мутацию ESR1:D538G, контрольной средой, палбоциклибом, фулвестрантом (3 мг/доза) и элацестрантом (30 и 60 мг/кг). На фиг. 9D представлены результаты количественной оценки уровня белка CCNE1 (или циклина E1), которые были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК PgR (нормализованных к контролю) относительно обработки ксенотрансплантатной PDX-модели WHIM43, имеющей мутацию ESR1:D538G, контрольной средой, палбоциклибом, фулвестрантом (3 мг/доза) и элацестрантом (30 и 60 мг/кг). На фиг. 9Е представлены уровни мРНК PgR, которые определяли путем построения графика уровней мРНК PgR (нормализованных к контролю) относительно обработки ксенотрансплантатной PDX-модели WHIM43, имеющей мутацию ESR1:D538G, контрольной средой, палбоциклибом, фулвестрантом (3

мг/доза) и элацестрантом (30 и 60 мг/кг). На фиг. 9F представлены результаты вестерн-блоттинга, иллюстрирующие ксенотрансплантатную PDX-модель WHIM43-HI, имеющую мутацию ESR1:D538G, обработанную контрольной средой, палбоциклибом, фулвестрантом (3 мг/доза) и элацестрантом (30 и 60 мг/кг).

[00127] Обратимся теперь к фиг. 10A-10C, на которых продемонстрировано, что элацестрант ингибирует передачу сигналов ER у устойчивых к ингибиторам CDK4/6 моделей. На фиг. 10A показаны результаты количественной оценки прогестеронового рецептора (PgR) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:дикого типа, которые были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК PgR (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R контролем и элацестрантом (100 нМ и 1000 нМ). На фиг. 10B показаны результаты количественной оценки фактора «трилистника» 1 (TFF1) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:дикого типа, которые были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК TFF1 (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R контролем и элацестрантом (100 нМ и 1000 нМ). На фиг. 10C показаны результаты количественной оценки регулируемого эстрогеном роста (GREB1) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:дикого типа, которые были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК GREB1 (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R контролем и элацестрантом (100 нМ и 1000 нМ).

[00128] Обратимся теперь к фиг. 11A-11C, на которых продемонстрировано, что элацестрант ингибирует передачу сигналов ER у устойчивых к ингибиторам CDK4/6 моделей. На фиг. 11A показаны результаты количественной оценки прогестеронового рецептора (PgR) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:D538G, которые были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК PgR (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R контролем и элацестрантом (100 нМ и 1000 нМ). На фиг. 11B показаны результаты количественной оценки фактора «трилистника» 1 (TFF1) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:D538G, которые были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК TFF1 (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R контролем и элацестрантом (100 нМ и 1000 нМ). На фиг. 11C показаны результаты количественной оценки регулируемого эстрогеном роста (GREB1) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:D538G, которые были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК GREB1 (нормализованных к

контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R контролем и элацестрантом (100 нМ и 1000 нМ).

[00129] Обратимся теперь к фиг. 12А-12С, на которых продемонстрировано, что элацестрант ингибирует передачу сигналов ER у устойчивых к ингибиторам CDK4/6 моделей. На фиг. 12А показаны результаты количественной оценки прогестеронового рецептора (PgR) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:Y537S, которые были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК PgR (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R контролем и элацестрантом (100 нМ и 1000 нМ). На фиг. 11В показаны результаты количественной оценки фактора «трилистника» 1 (TFF1) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:Y537S, которые были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК TFF1 (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R контролем и элацестрантом (100 нМ и 1000 нМ). На фиг. 11С показаны результаты количественной оценки регулируемого эстрогеном роста (GREB1) в моделях опухолевых клеток, имеющих мутацию ESR1:Y537S, которые были получены путем построения графика зависимости уровней мРНК GREB1 (нормализованных к контролю) относительно обработки линий клеток палбо^S и палбо^R контролем и элацестрантом (100 нМ и 1000 нМ).

[00130] Обратимся теперь к фиг. 13, на которой продемонстрировано, что элацестрант ингибировал рост опухоли у PDX-модели, ранее обработанной комбинацией фулвестранта и палбоциклиба. На фиг. 13 на графике представлен объем опухоли ксенотрансплантатной PDX-модели WHIM43-Н1 (ранее не получавшей обработки) в зависимости от суток обработки при обработке модели средой или комбинацией фулвестранта и палбоциклиба (данные для фулвестранта 3 мг/доза взяты из отдельного исследования). Опухоли из группы фулвестранта и палбоциклиба затем были повторно имплантированы в другом исследовании (с обработкой палбоциклибом ST941-Н1; первый пассаж), а затем обработаны средой, фулвестрантом (3 мг/доза), палбоциклибом (25 мг/кг) и элацестрантом (30 мг/кг) с целью демонстрации, что элацестрант все еще эффективен при ингибировании роста опухоли в PDX-модели, ранее подвергнутой обработке комбинацией фулвестранта и палбоциклиба.

Другие варианты осуществления

[00131] Все публикации и патенты, упомянутые в настоящем раскрытии, включены в настоящий документ посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация или патентная заявка была специально и индивидуально указана как

включенная посредством ссылки. Если значение терминов в любом из патентов или публикаций, включенных посредством ссылки, противоречит значению терминов, применяемых в настоящем раскрытии, предполагается, что значение терминов в настоящем раскрытии имеет преимущественную силу. Более того, в предшествующем рассмотрении раскрыты и описаны лишь иллюстративные варианты осуществления настоящего изобретения. Специалист в настоящей области техники легко поймет из такого рассмотрения и из прилагаемых чертежей и формулы изобретения, что в них могут быть сделаны различные изменения, модификации и вариации, не выходящие за рамки идеи и объема настоящего изобретения, которые определены в представленной далее формуле изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ ингибирования и ослабления устойчивого к ингибиторам CDK4/6, положительного по эстрогеновому рецептору-альфа рака у субъекта, предусматривающий введение субъекту терапевтически эффективного количества элацестранта или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата.

2. Способ по п. 1, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к палбоциклибу, рибоциклибу, абемациклибу или их комбинации.

3. Способ по п. 1, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к палбоциклибу.

4. Способ по п. 1, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к рибоциклибу.

5. Способ по п. 1, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к абемациклибу.

6. Способ по любому из пп. 1-5, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак характеризуется одной или несколькими мутациями, выбранными из группы, состоящей из D538G, Y537X₁, L536X₂, P535H, V534E, S463P, V392I, E380Q и их комбинаций, где: X₁ представляет собой S, N или C; а X₂ представляет собой R или Q.

7. Способ по п. 6, причем мутация представляет собой Y537S.

8. Способ по п. 6, причем мутация представляет собой D538G.

9. Способ по любому из пп. 1-8, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак дополнительно устойчив к лекарственному средству, выбранному из группы, состоящей из антиэстрогенов, ингибиторов ароматазы и их комбинаций.

10. Способ по любому из пп. 1-9, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак выбран из группы, состоящей из рака молочной железы, рака матки, рака яичников и рака гипофиза.

11. Способ по любому из пп. 1-10, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак является раком на поздней стадии или метастатическим раком молочной железы.

12. Способ по любому из пп. 1-10, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак является раком молочной железы.

13. Способ по любому из пп. 1-12, причем субъектом является женщина в постменопаузе.

14. Способ по любому из пп. 1-12, причем субъектом является женщина в предменопаузе.

15. Способ по любому из пп. 1-12, причем субъектом является женщина в постменопаузе, у которой был рецидив или прогрессирование после предыдущего лечения селективными модуляторами эстрогеновых рецепторов (SERM) и/или ингибиторами ароматазы (AI).

16. Способ по любому из пп. 1-15, причем элацестрант вводят субъекту в дозе от приблизительно 200 мг/сутки до приблизительно 500 мг/сутки.

17. Способ по любому из пп. 1-16, причем элацестрант вводят субъекту в дозе приблизительно 200 мг/сутки, приблизительно 300 мг/сутки, приблизительно 400 мг/сутки или приблизительно 500 мг/сутки.

18. Способ по любому из пп. 1-15, элацестрант вводят субъекту в дозе, которая является максимально переносимой дозой для субъекта.

19. Способ по любому из пп. 1-18, причем способ дополнительно предусматривает:

идентификацию субъекта для лечения путем измерения повышенной экспрессии одного или нескольких генов, выбранных из ABL1, AKT1, AKT2, ALK, APC, AR, ARID1A, ASXL1, ATM, AURKA, BAP, BAP1, BCL2L11, BCR, BRAF, BRCA1, BRCA2, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CDH1, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CEBPA, CTNNB1, DDR2, DNMT3A, E2F3, EGFR, EML4, EPHB2, ERBB2, ERBB3, ESR1, EWSR1, FBXW7, FGF4, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, FRS2, HIF1A, HRAS, IDH1, IDH2, IGF1R, JAK2, KDM6A, KDR, KIF5B, KIT, KRAS, LRP1B, MAP2K1, MAP2K4, MCL1, MDM2, MDM4, MET, MGMT, MLL, MPL, MSH6, MTOR, MYC, NF1, NF2, NKX2-1, NOTCH1, NPM, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PIK3R1, PML, PTEN, PTPRD, RARA, RB1, RET, RICTOR, ROS1, RPTOR, RUNX1, SMAD4, SMARCA4, SOX2, STK11, TET2, TP53, TSC1, TSC2 и VHL.

20. Способ по п. 19, причем один или несколько генов выбраны из AKT1, AKT2, BRAF, CDK4, CDK6, PIK3CA, PIK3R1 и MTOR.

21. Способ по любому из пп. 1-20, причем соотношение концентрации элацестранта или его соли или сольвата в опухоли к концентрации элацестранта или его соли или сольвата в плазме (T/P) после введения составляет по меньшей мере приблизительно 15.

22. Способ лечения положительного по эстрогеновому рецептору-альфа, устойчивого к ингибиторам CDK4/6 рака у субъекта, имеющего эстрогеновый рецептор-альфа дикого типа и/или мутантный эстрогеновый рецептор-альфа, причем способ предусматривает:

введение субъекту терапевтически эффективного количества элацестранта или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата,

причем мутантный эстрогеновый рецептор-альфа содержит одну или несколько мутаций, выбранных из группы, состоящей из D538G, Y537X₁, L536X₂, P535H, V534E, S463P, V392I, E380Q и их комбинаций, где: X₁ представляет собой S, N или C; а X₂ представляет собой R или Q.

23. Способ по п. 22, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к палбоциклибу, рибоциклибу, абемациклибу или их комбинации.

24. Способ по п. 22, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к палбоциклибу.

25. Способ по п. 22, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к рибоциклибу.

26. Способ по п. 22, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак устойчив к абемациклибу.

27. Способ по любому из пп. 22-26, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак дополнительно устойчив к лекарственному средству, выбранному из группы, состоящей из антиэстрогенов, ингибиторов ароматазы и их комбинаций.

28. Способ по п. 27, причем антиэстрогены выбраны из группы, состоящей из тамоксифена, торемифена и фулвестранта, а ингибиторы ароматазы выбраны из группы, состоящей из экземестана, летрозолола и анастрозолола.

29. Способ по любому из пп. 22-28, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак выбран из группы, состоящей из рака молочной железы, рака матки, рака яичников и рака гипофиза.

30. Способ по любому из пп. 22-29, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак является раком на поздней стадии или метастатическим раком молочной железы.

31. Способ по любому из пп. 22-29, причем устойчивый к ингибиторам CDK4/6, положительный по эстрогеновому рецептору-альфа рак является раком молочной железы.

32. Способ по любому из пп. 22-31, причем субъектом является женщина в постменопаузе.

33. Способ по любому из пп. 22-31, причем субъектом является женщина в предменопаузе.

34. Способ по любому из пп. 22-31, причем субъектом является женщина в постменопаузе, у которой был рецидив или прогрессирование после предыдущего лечения посредством SERM и/или AI.

35. Способ по любому из пп. 22-34, причем у субъекта экспрессируется по меньшей мере один мутантный эстрогеновый рецептор-альфа, выбранный из группы, состоящей из D538G, Y537S, Y537N, Y537C, E380Q, S463P, L536R, L536Q, P535H, V392I и V534E.

36. Способ по п. 35, причем мутация включает Y537S.

37. Способ по п. 35, причем мутация включает D538G.

38. Способ по любому из пп. 22-37, причем способ дополнительно предусматривает:

идентификацию субъекта для лечения путем измерения повышенной экспрессии одного или нескольких генов, выбранных из ABL1, AKT1, AKT2, ALK, APC, AR, ARID1A, ASXL1, ATM, AURKA, BAP, BAP1, BCL2L11, BCR, BRAF, BRCA1, BRCA2, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CDH1, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CEBPA, CTNNB1, DDR2, DNMT3A, E2F3, EGFR, EML4, EPHB2, ERBB2, ERBB3, ESR1, EWSR1, FBXW7, FGF4, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, FRS2, HIF1A, HRAS, IDH1, IDH2, IGF1R, JAK2, KDM6A, KDR, KIF5B, KIT, KRAS, LRP1B, MAP2K1, MAP2K4, MCL1, MDM2, MDM4, MET, MGMT, MLL, MPL, MSH6, MTOR, MYC, NF1, NF2, NKX2-1, NOTCH1, NPM, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PIK3R1, PML, PTEN, PTPRD, RARA, RB1, RET, RICTOR, ROS1, RPTOR, RUNX1, SMAD4, SMARCA4, SOX2, STK11, TET2, TP53, TSC1, TSC2 и VHL.

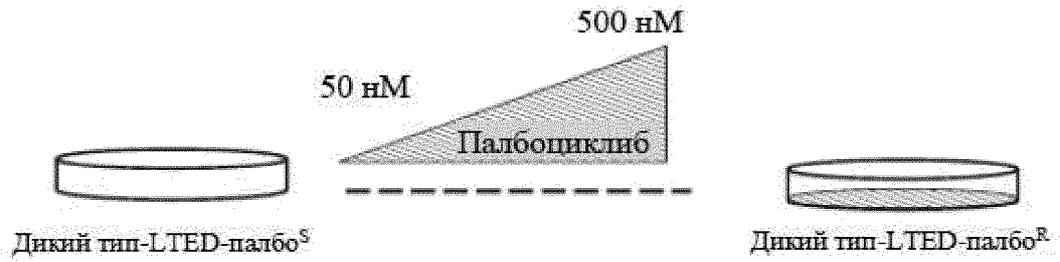
39. Способ по п. 38, причем один или несколько генов выбраны из AKT1, AKT2, BRAF, CDK4, CDK6, PIK3CA, PIK3R1 и MTOR.

40. Способ по любому из пп. 22-39, причем элацестрант вводят субъекту в дозе от приблизительно 200 до приблизительно 500 мг/сутки.

41. Способ по любому из пп. 22-40, причем элацестрант вводят субъекту в дозе приблизительно 200 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 400 мг или приблизительно 500 мг.

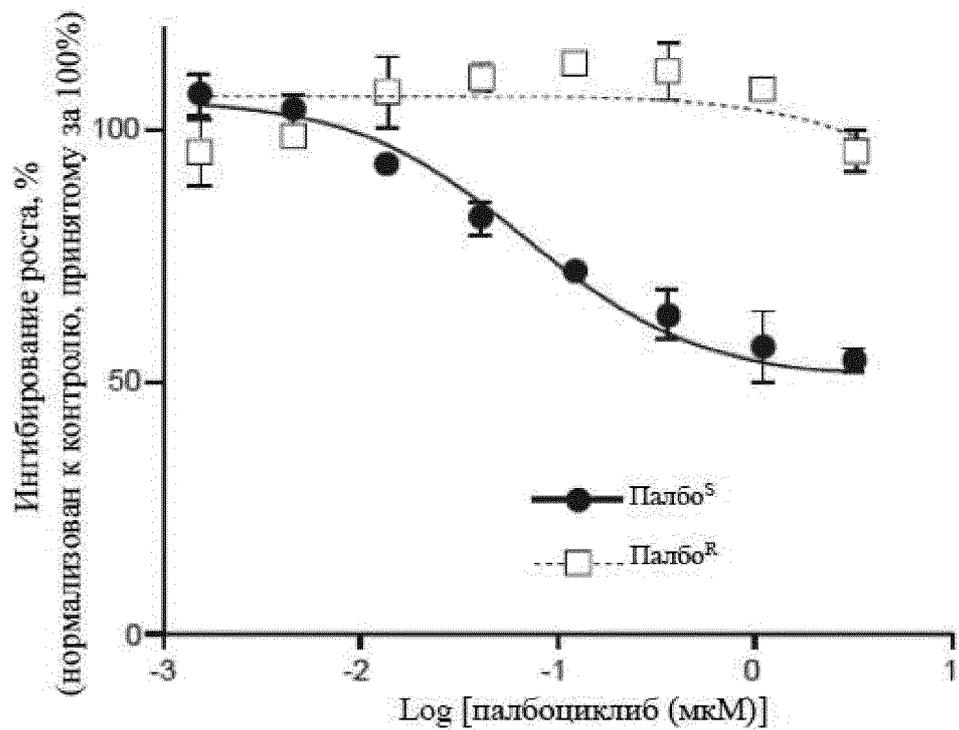
42. Способ по любому из пп. 22-41, причем соотношение концентрации элацестранта или его соли или сольвата в опухоли к концентрации элацестранта или его

соли или сольвата в плазме (Т/Р) после введения составляет по меньшей мере приблизительно 15.



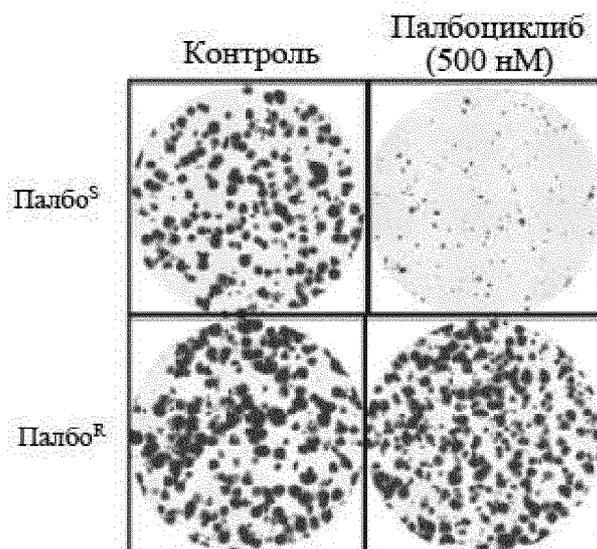
Фиг. 1А

ESR1: дикий тип



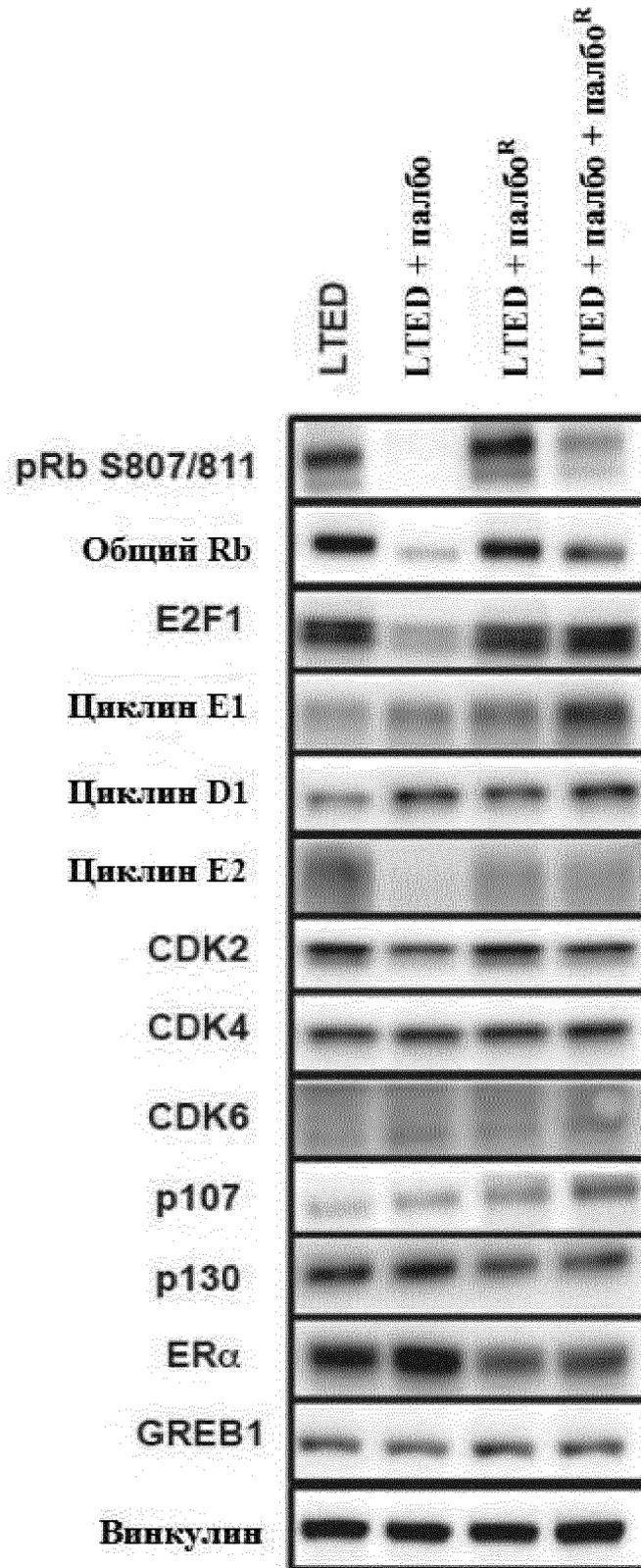
Фиг. 1В

ESR1: дикий тип



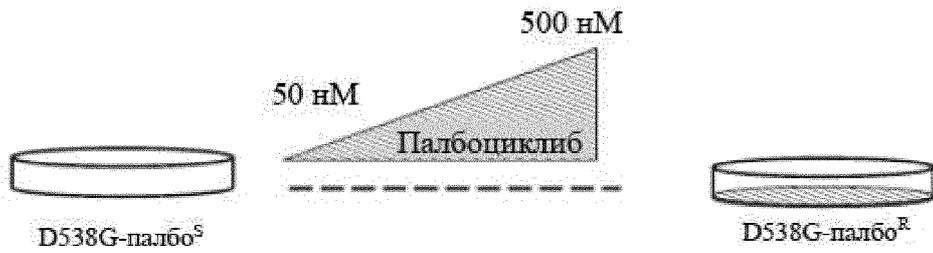
Фиг. 1С

ESR1: дикий тип



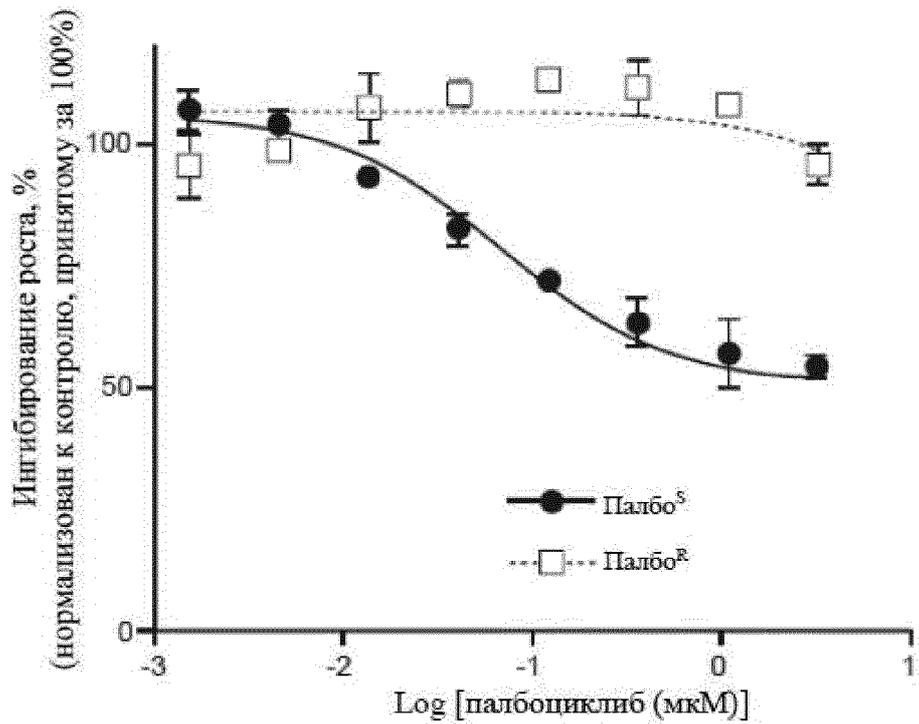
ESR1:дикий тип

Фиг. 1D



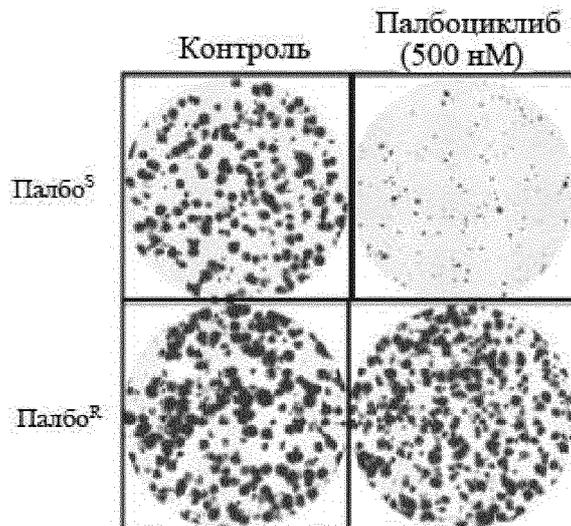
Фиг. 2А

ESR1: мутант (D538G)



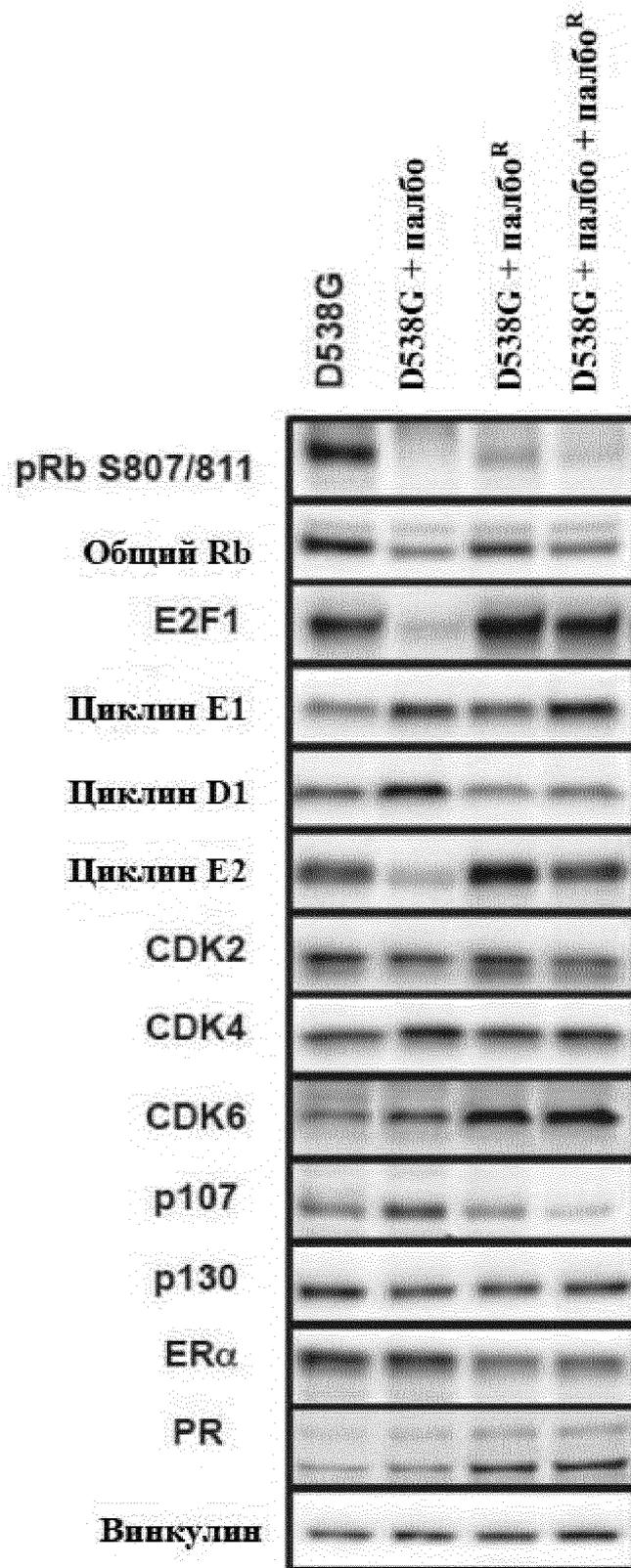
Фиг. 2В

ESR1: мутант (D538G)



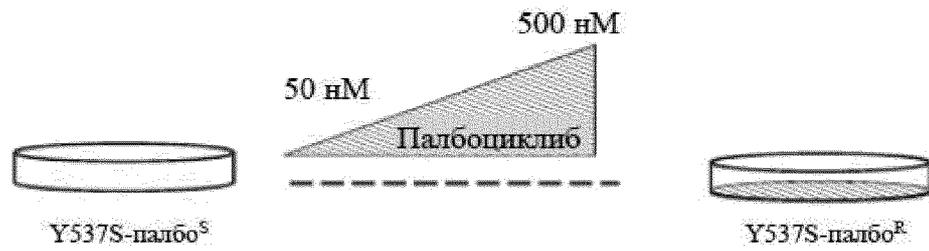
Фиг. 2С

ESR1: мутант (D538G)



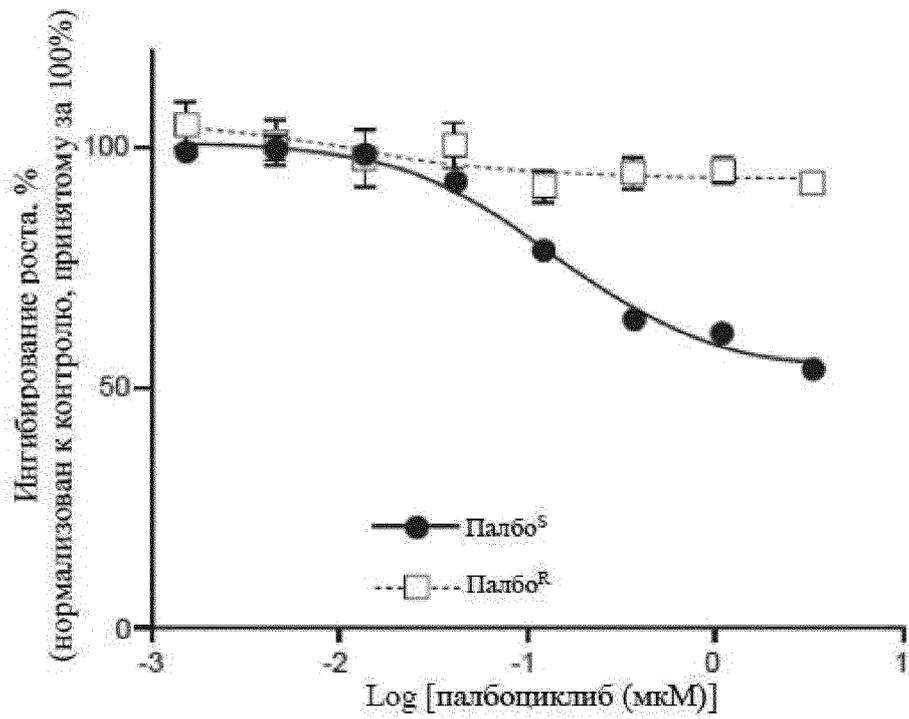
ESR1: мутант (D538G)

Фиг. 2D



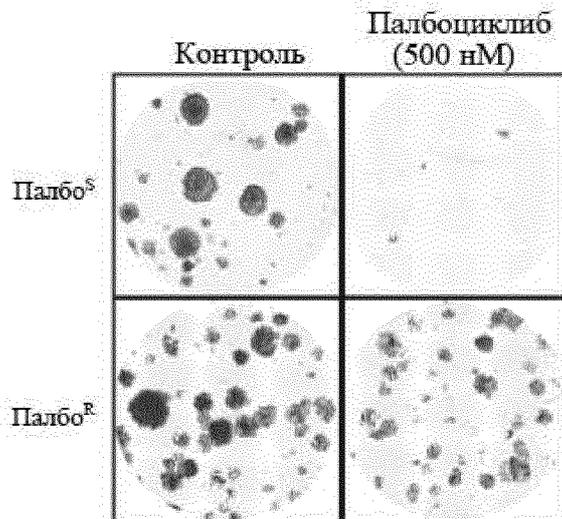
Фиг. 3А

ESR1: мутант (Y537S)



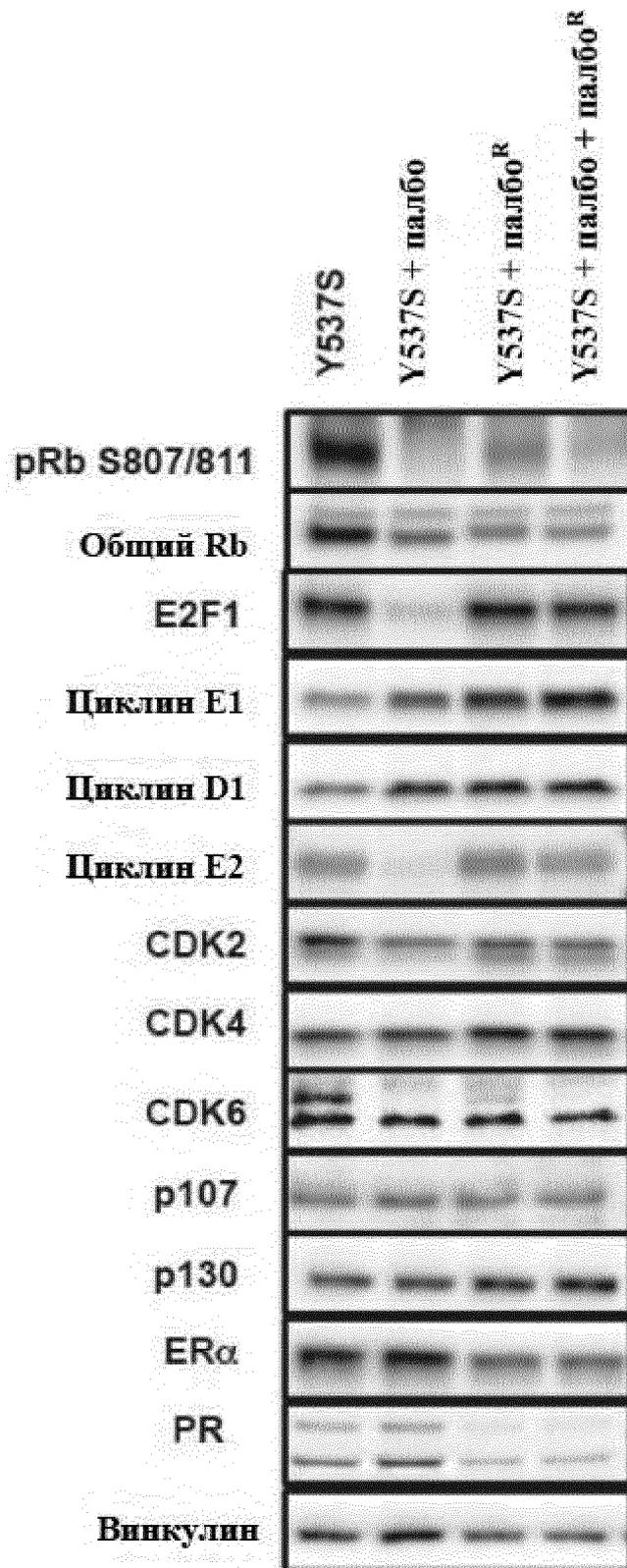
Фиг. 3В

ESR1: мутант (Y537S)

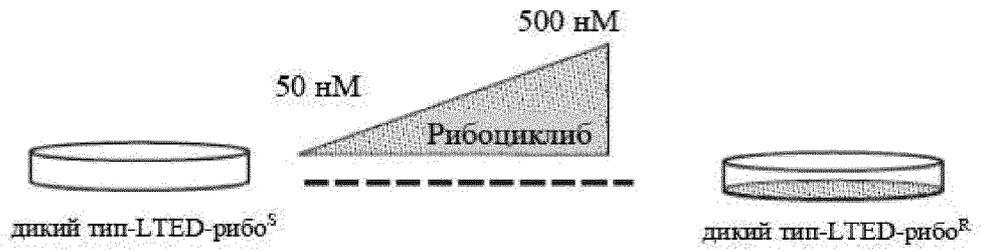


Фиг. 3С

ESR1: мутант (Y537S)

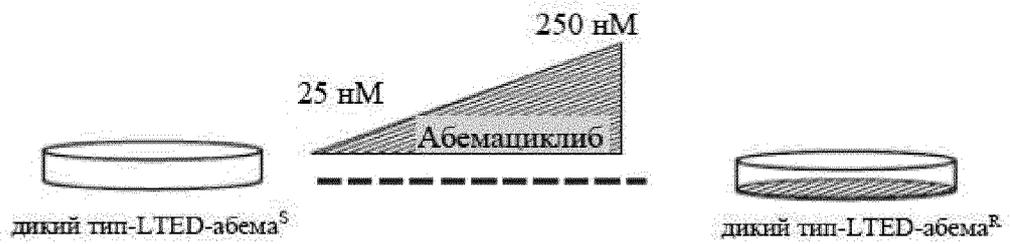


Фиг. 3D ESR1: мутант (Y537S)



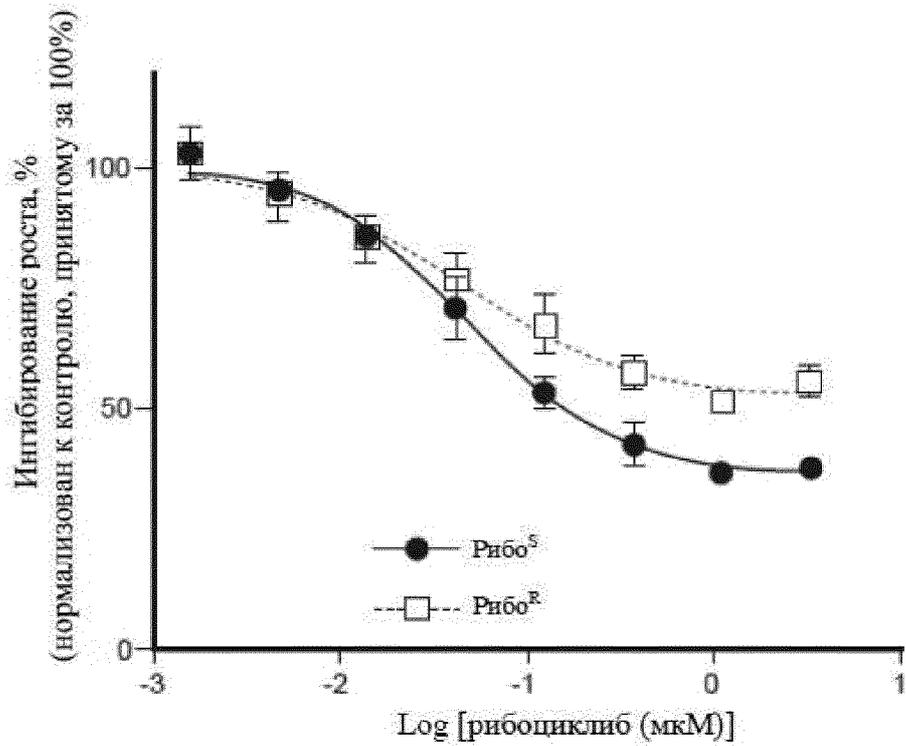
Фиг. 4А

ESR1: дикий тип



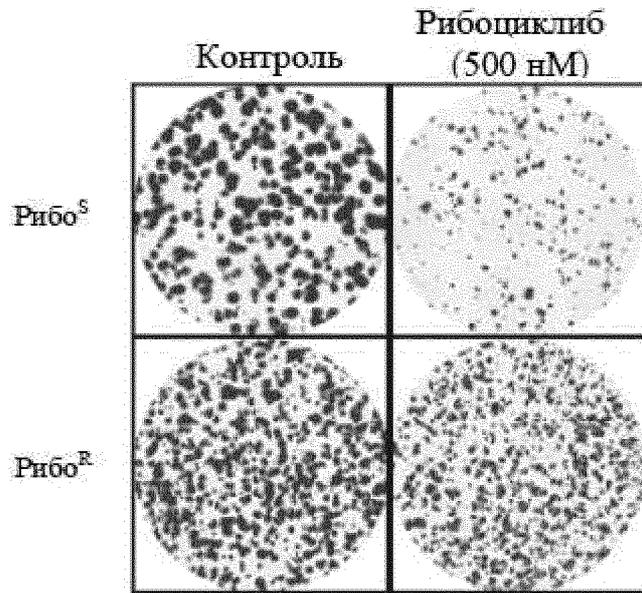
Фиг. 4В

ESR1: дикий тип



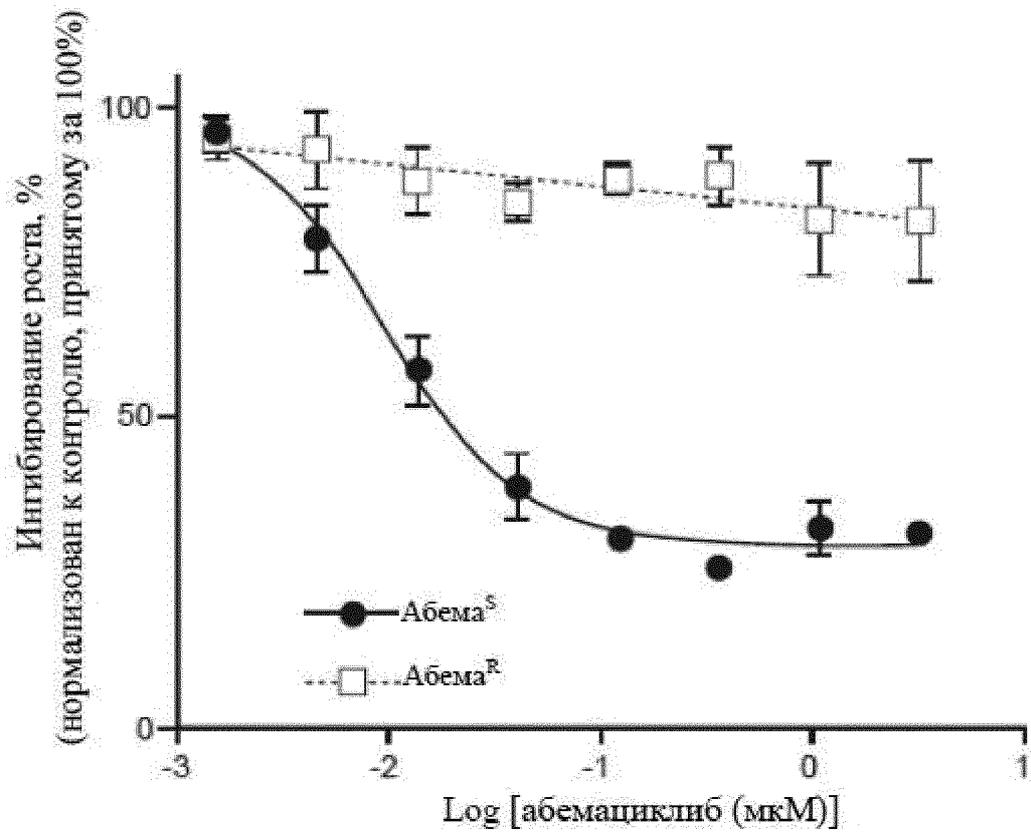
Фиг. 4С

ESR1: дикий тип



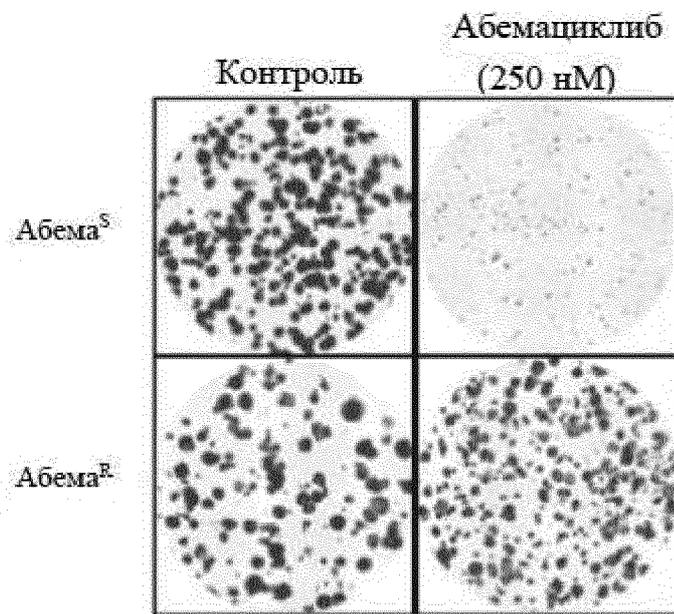
Фиг. 4D

ESR1: дикий тип

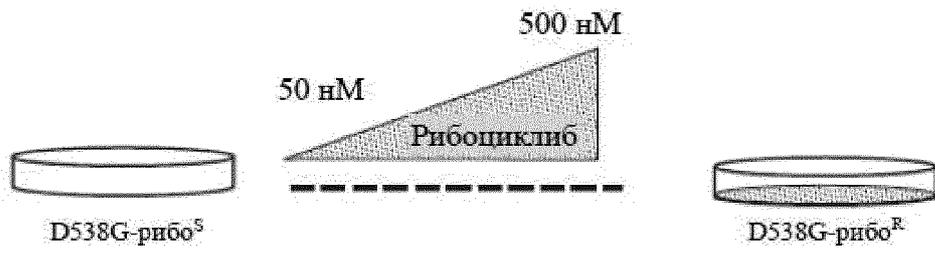


Фиг. 4E

ESR1: дикий тип

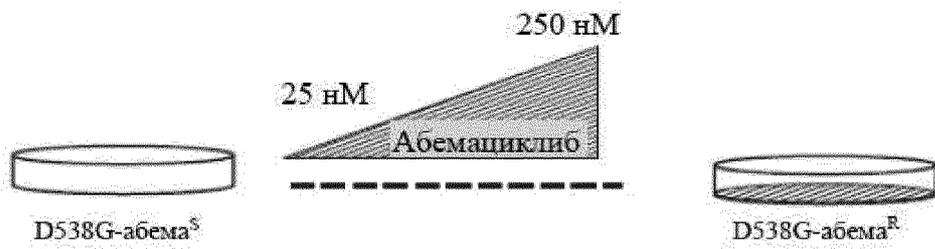
**Фиг. 4F**

ESR1: дикий тип



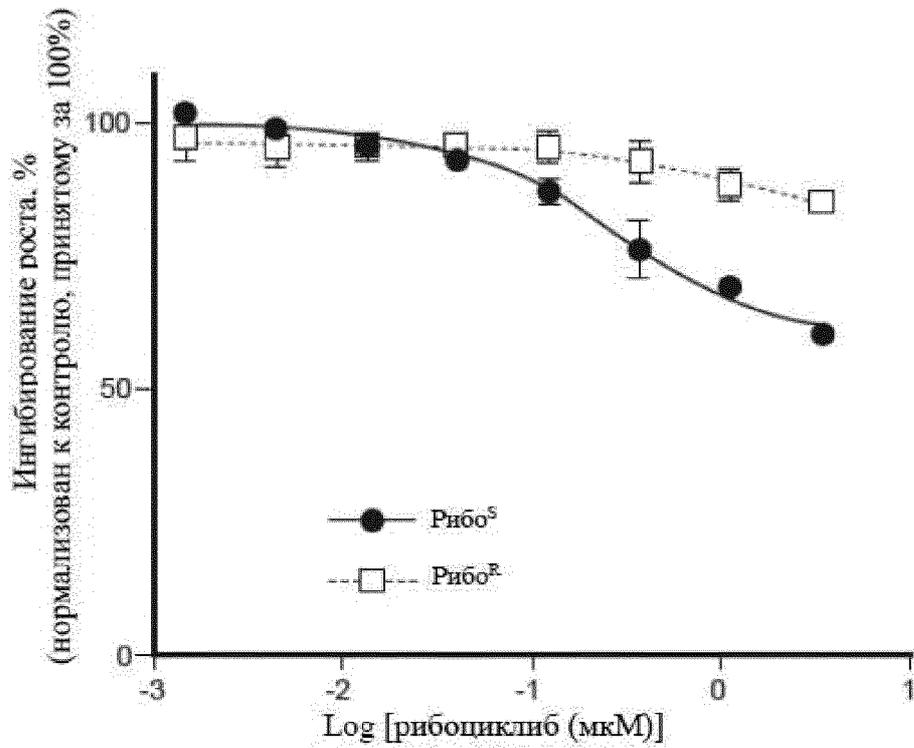
Фиг. 5А

ESR1: мутант (D538G)



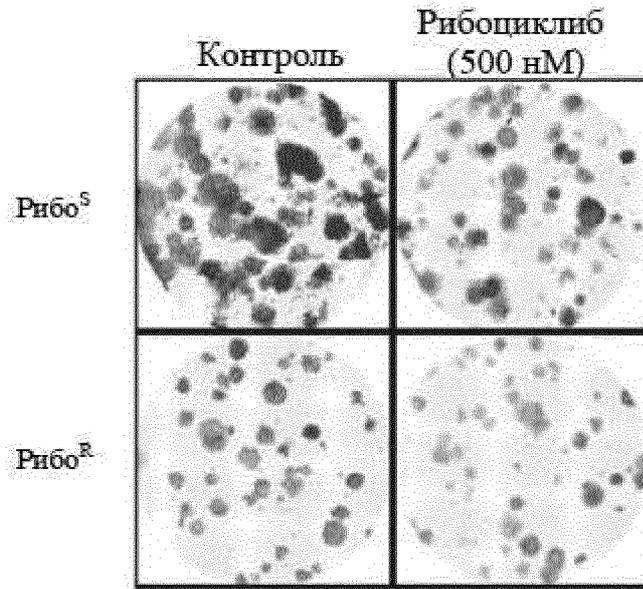
Фиг. 5В

ESR1: мутант (D538G)



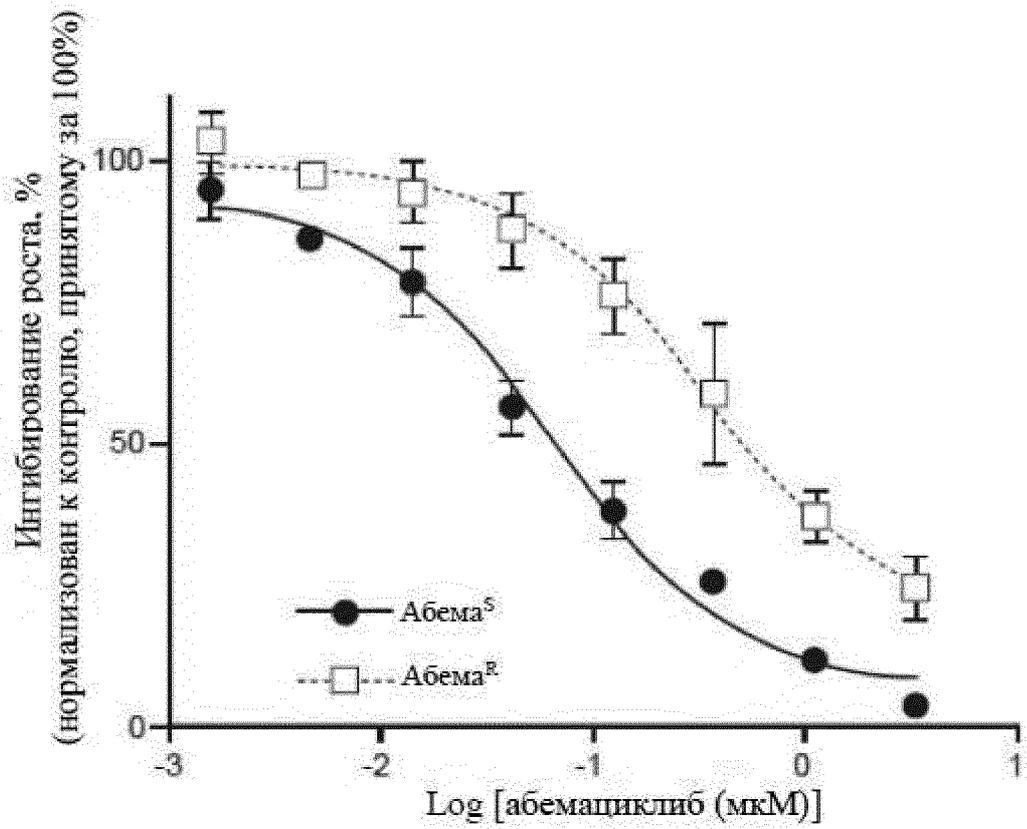
Фиг. 5С

ESR1: мутант (D538G)



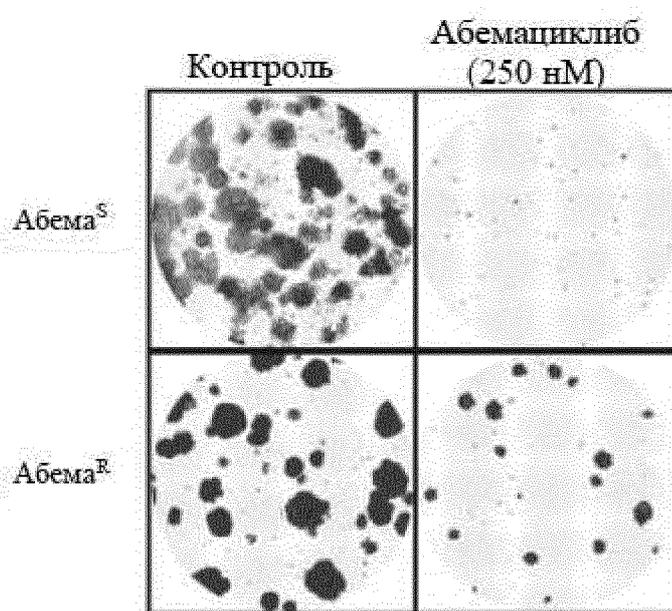
Фиг. 5D

ESR1: мутант (D538G)

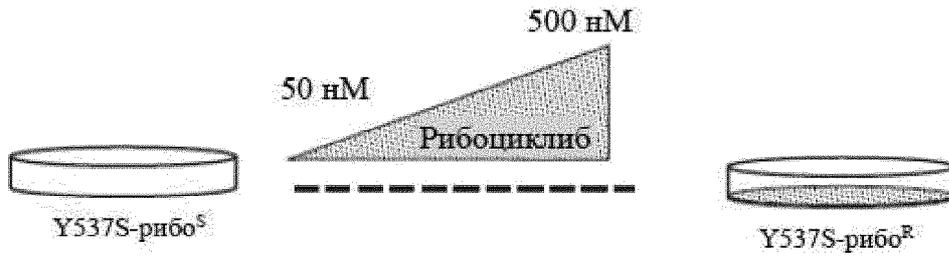


Фиг. 5E

ESR1: мутант (D538G)

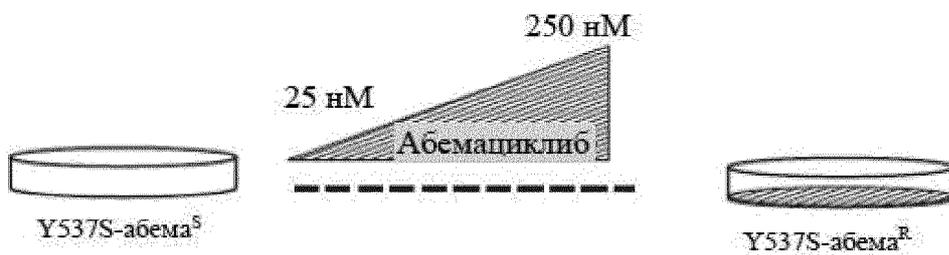
**Фиг. 5F**

ESR1: мутант (D538G)



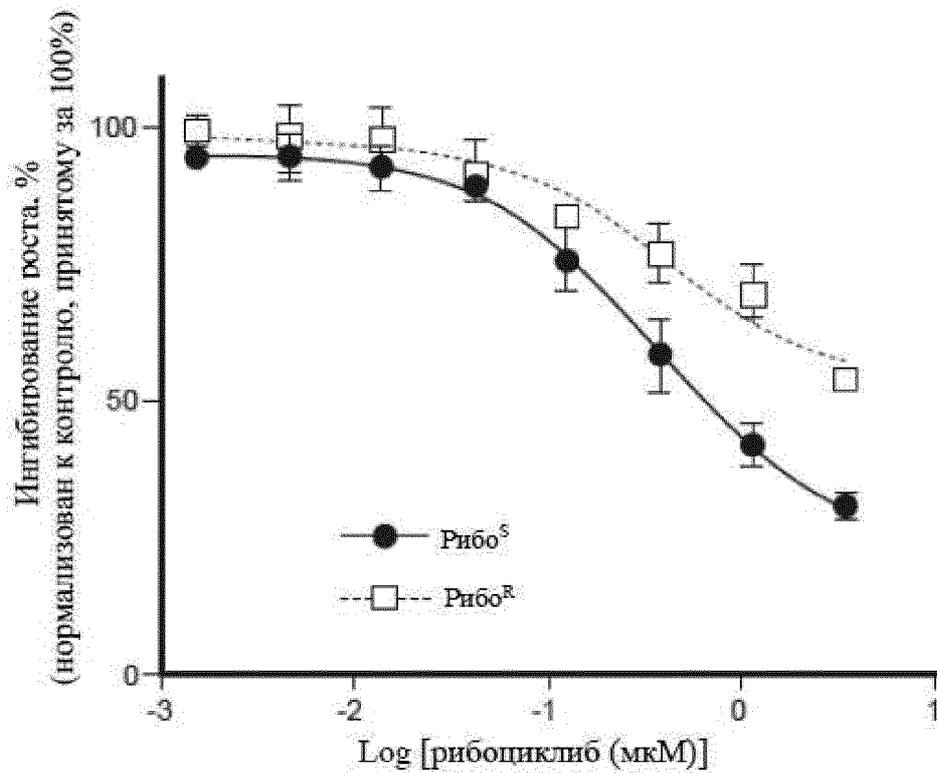
Фиг. 6А

ESR1: мутант (Y537S)



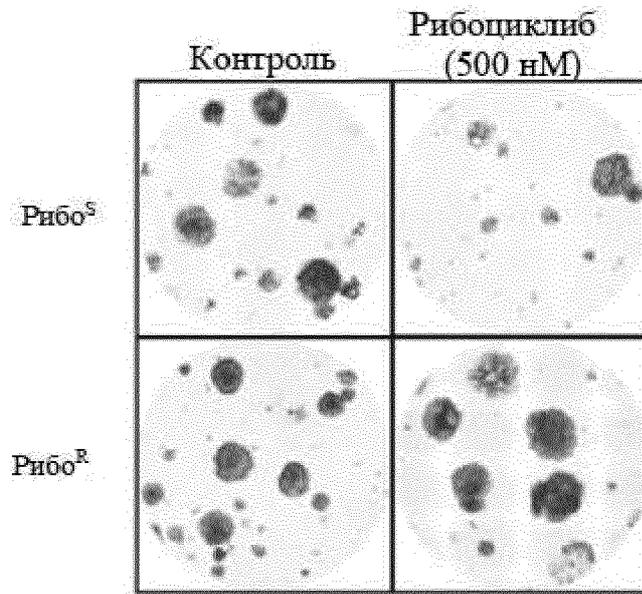
Фиг. 6В

ESR1: мутант (Y537S)



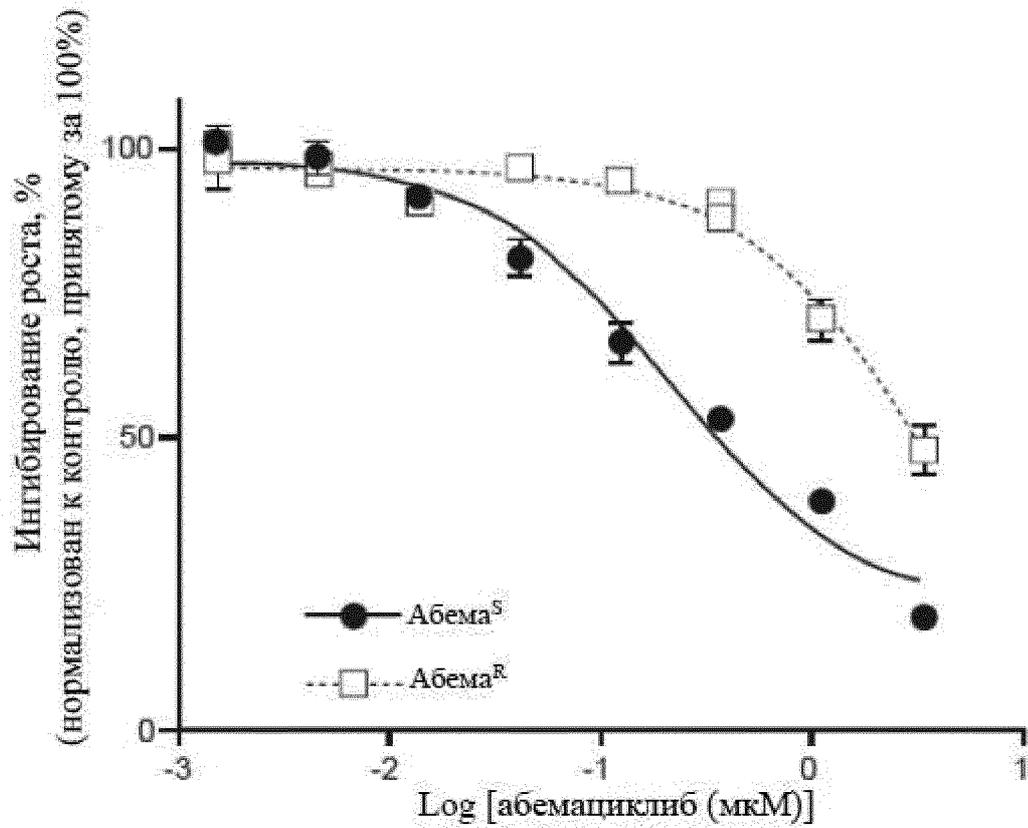
Фиг. 6С

ESR1: мутант (Y537S)



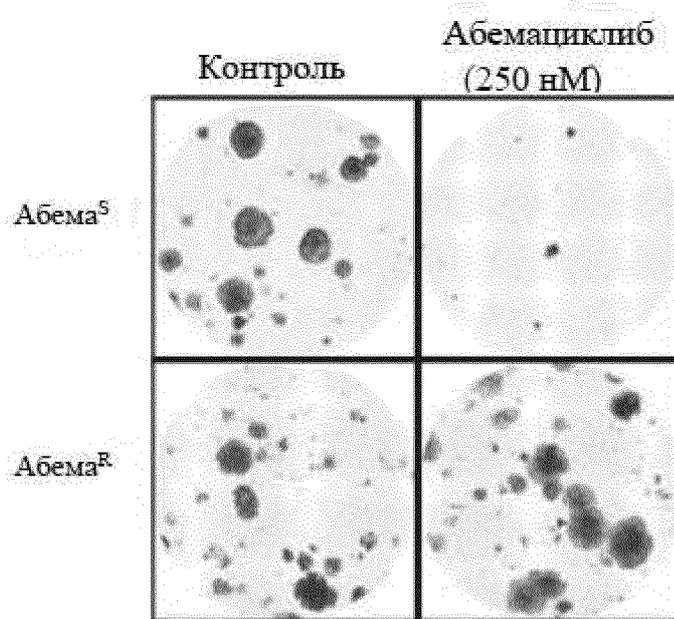
Фиг. 6D

ESR1: мутант (Y537S)



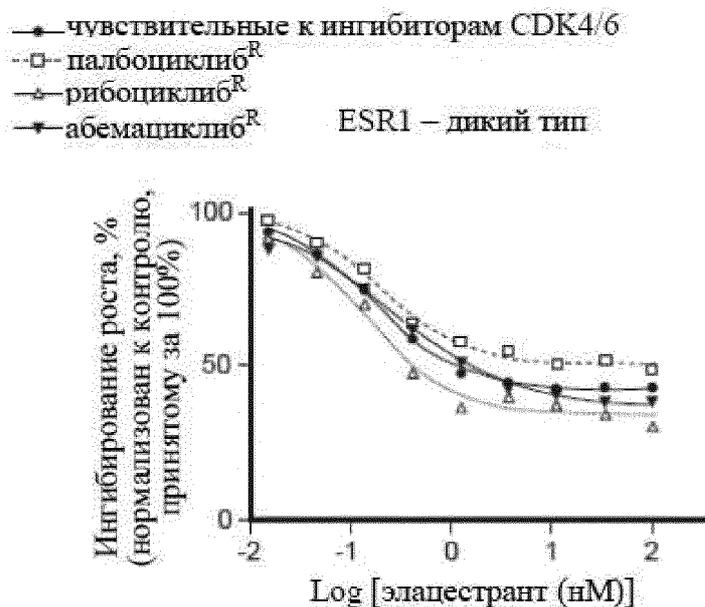
Фиг. 6E

ESR1: мутант (Y537S)



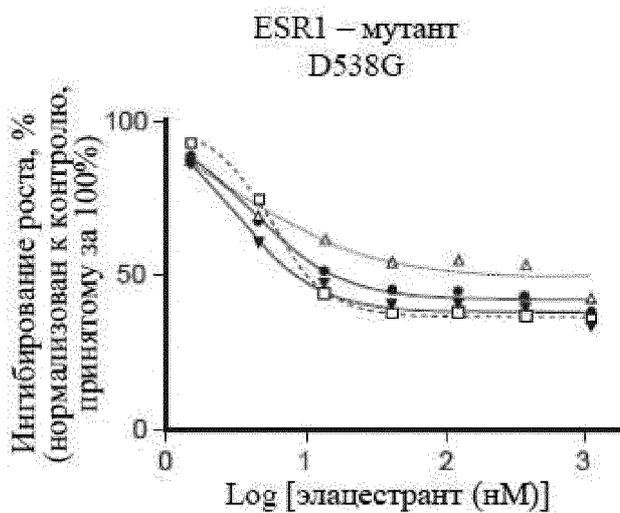
ESR1: мутант (Y537S)

Фиг. 6F



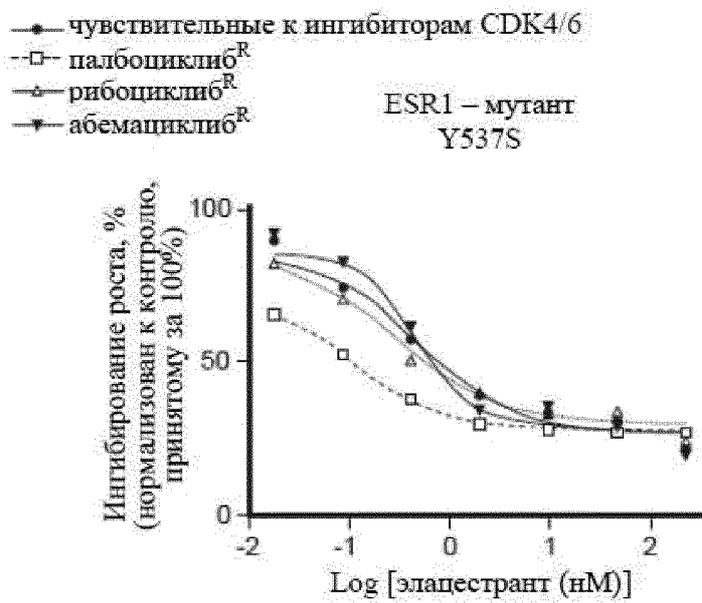
Ингибирование роста, EG ₅₀ (нМ)	
ESR1 дикого типа	
чувствительные к ингибиторам CDK4/6	0.17
палбоциклоб ^R	0.19
рибоциклоб ^R	0.13
абемациклоб ^R	0.25

Фиг. 7А



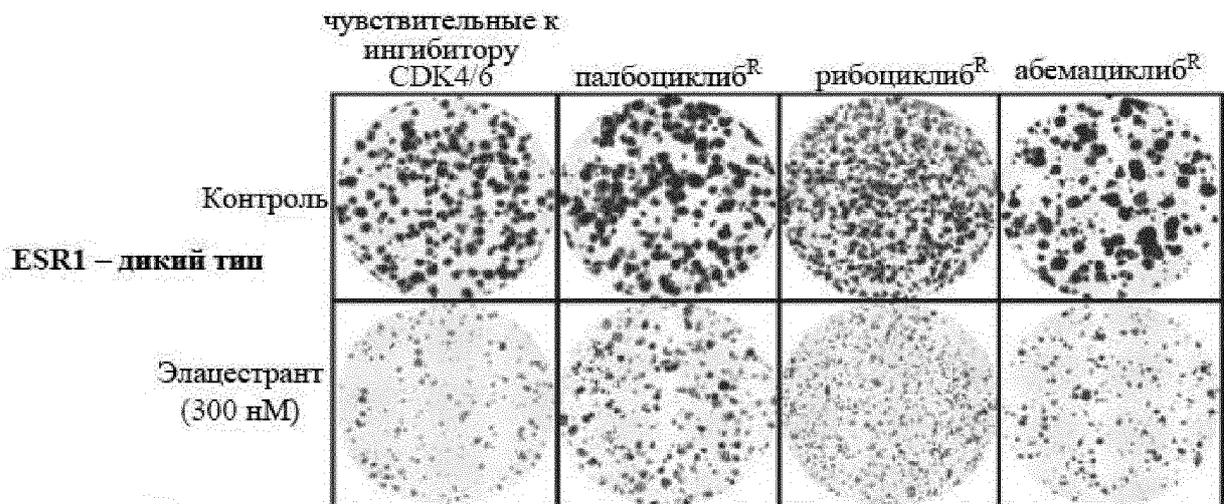
Ингибирование роста, EG ₅₀ (нМ)	
мутантный ESR1 (D538G)	
чувствительные к ингибиторам CDK4/6	4.2
палбоциклоб ^R	5.6
рибоциклоб ^R	4.1
абемациклоб ^R	3.4

Фиг. 7В

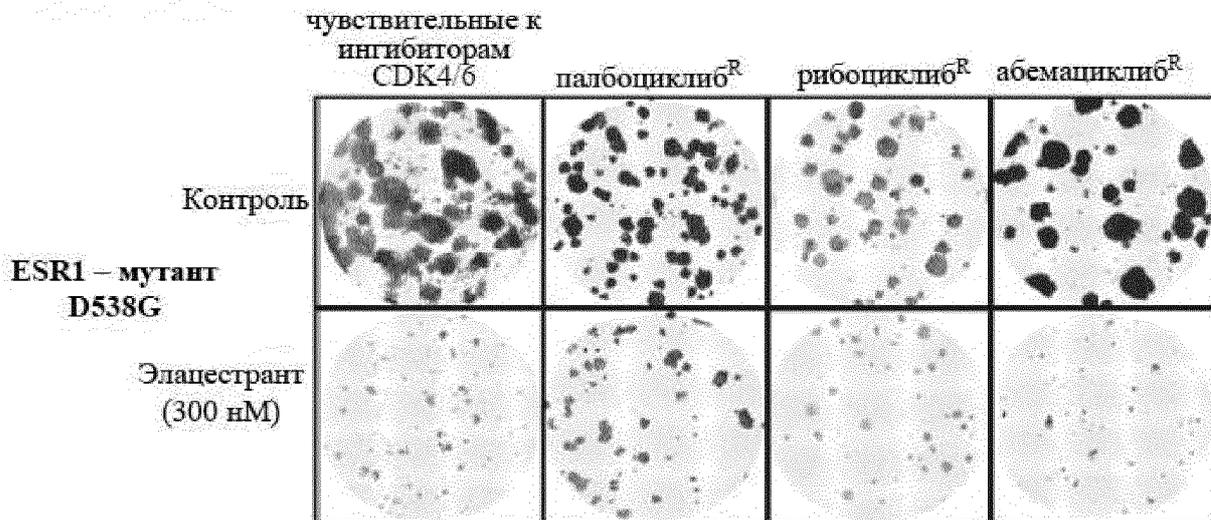


Фиг. 7С

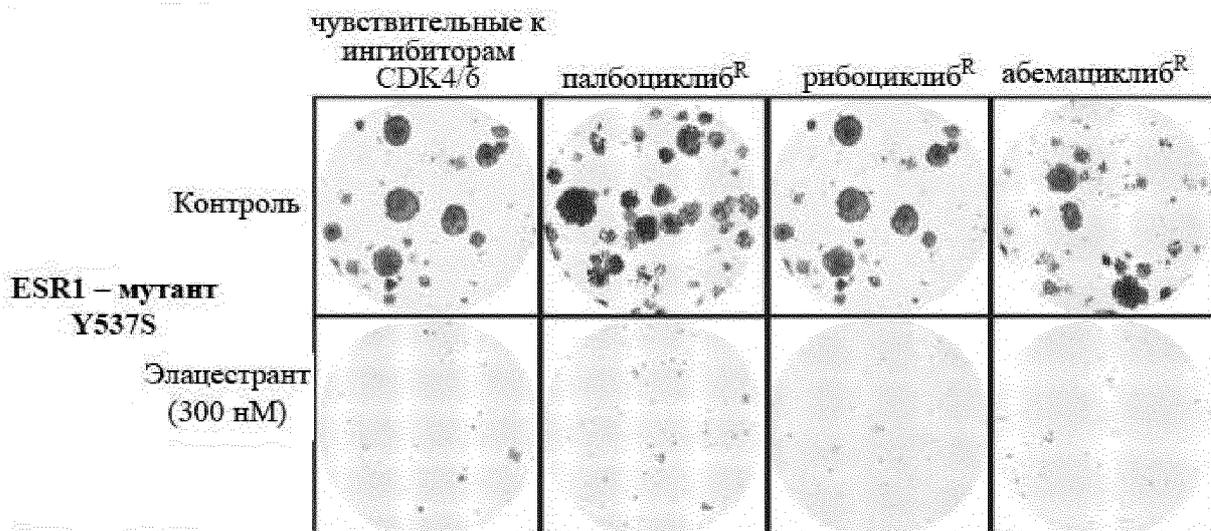
Ингибирование роста, EG ₅₀ (нМ)	
мутантный ESR1 (Y537S)	
чувствительные к ингибиторам CDK4/6	15.9
палбоцикло ^R	5.4
рибоцикло ^R	11.1
абемацикло ^R	16.1



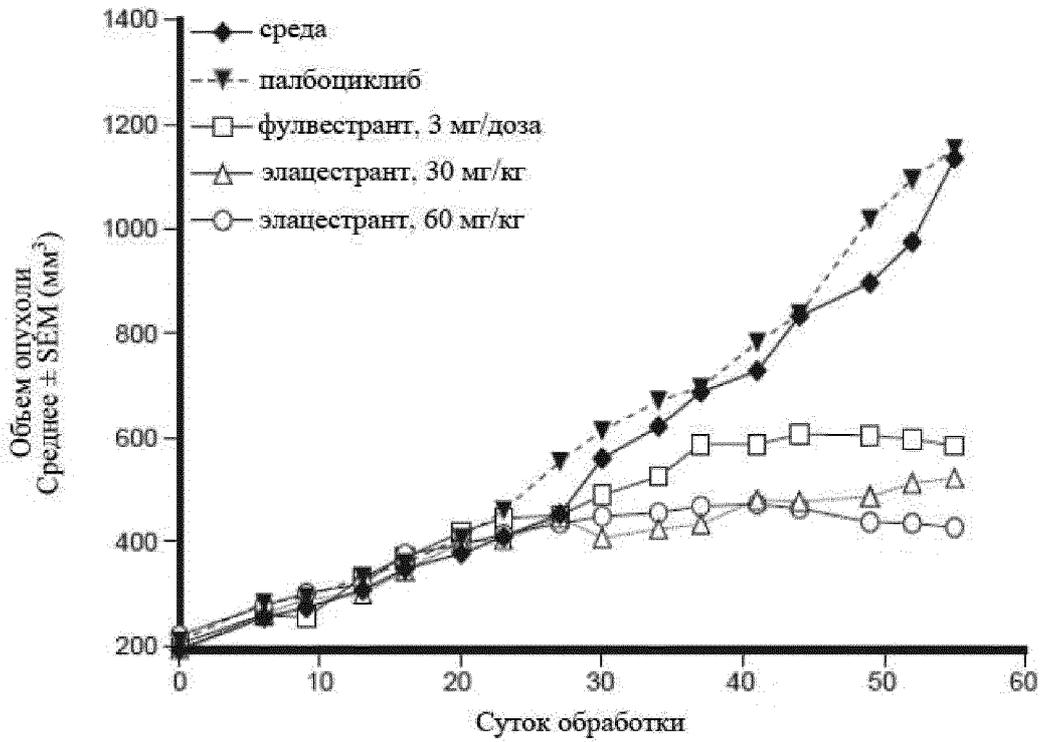
Фиг. 8А



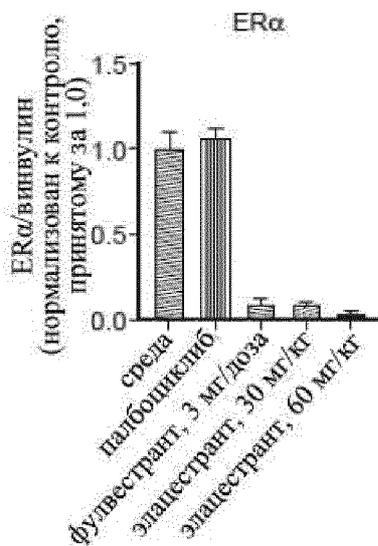
Фиг. 8В



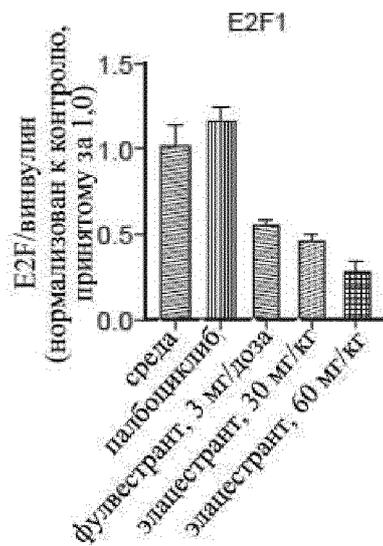
Фиг. 8С



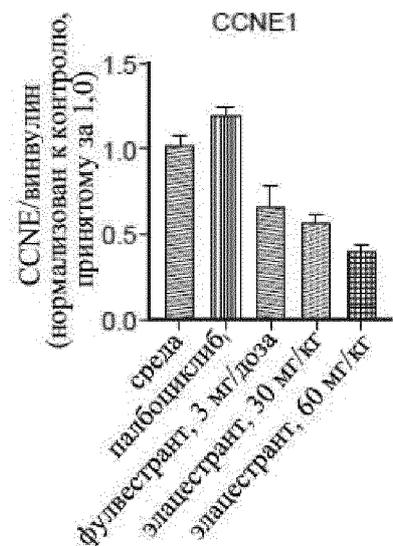
Фиг. 9А



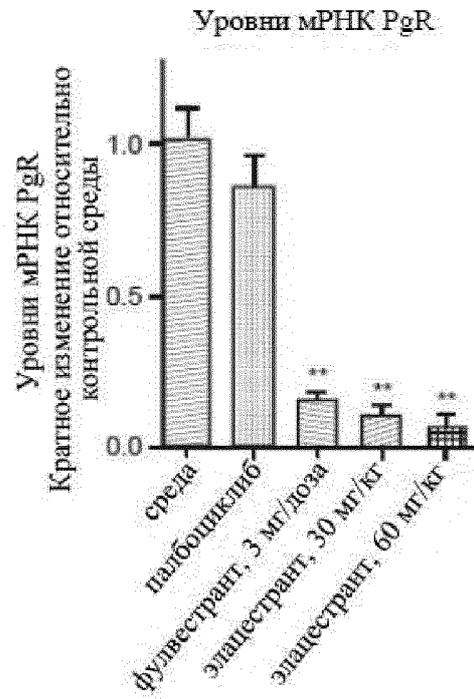
Фиг. 9В



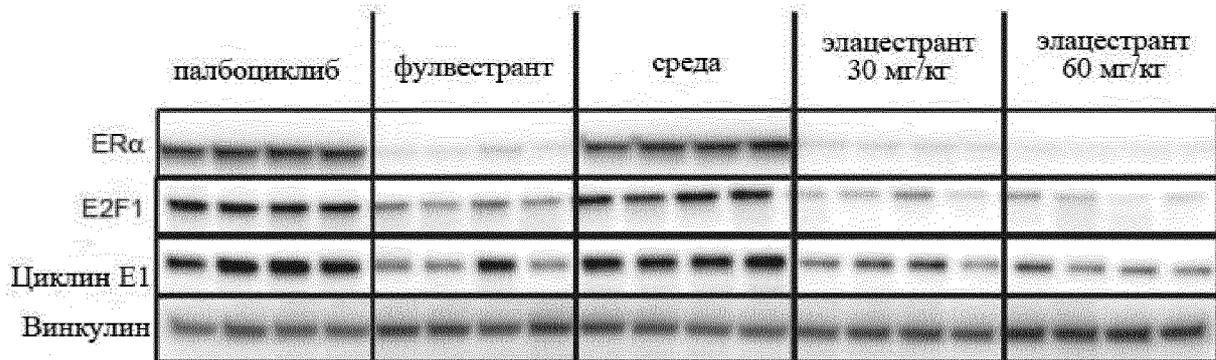
Фиг. 9С



Фиг. 9Д

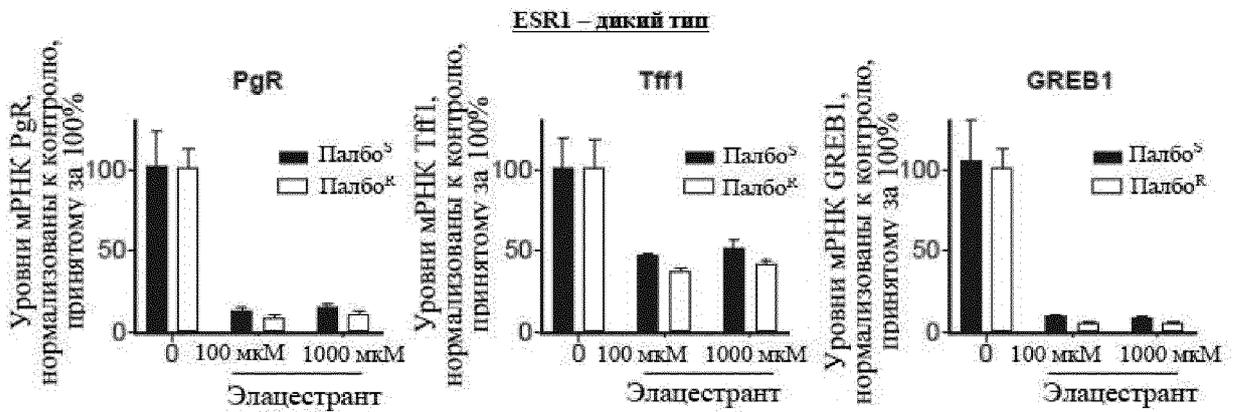


Фиг. 9E



Нулевая по RB модель⁸; pRb = не детектируется

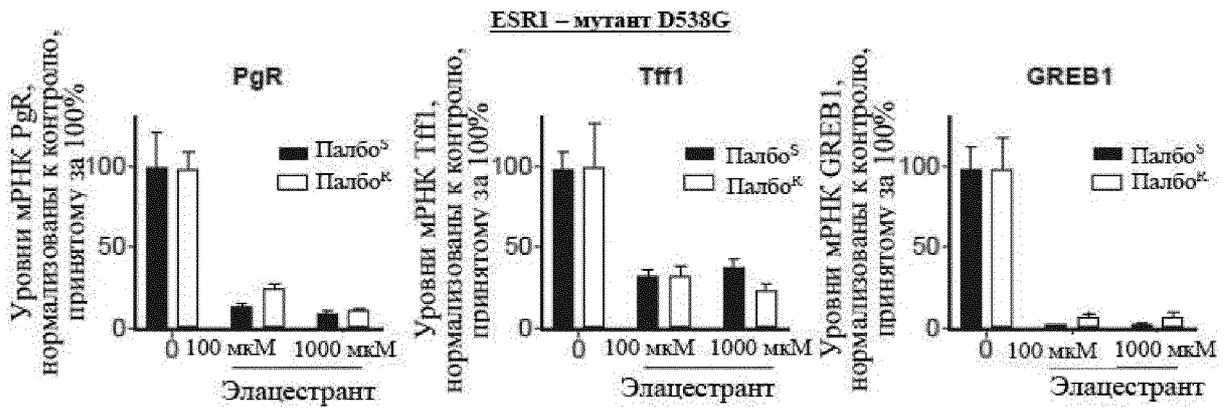
Фиг. 9F



Фиг. 10А

Фиг. 10В

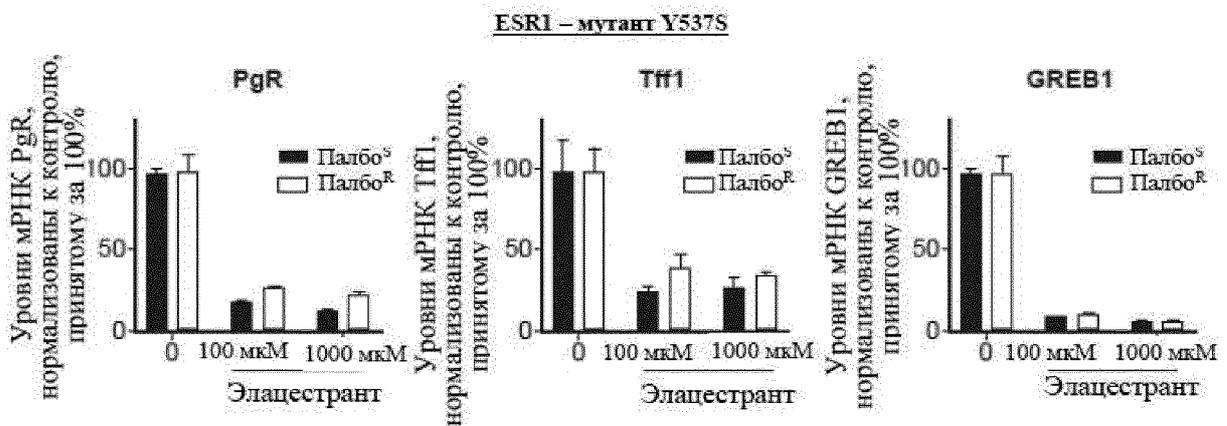
Фиг. 10С



Фиг. 11А

Фиг. 11В

Фиг. 11С

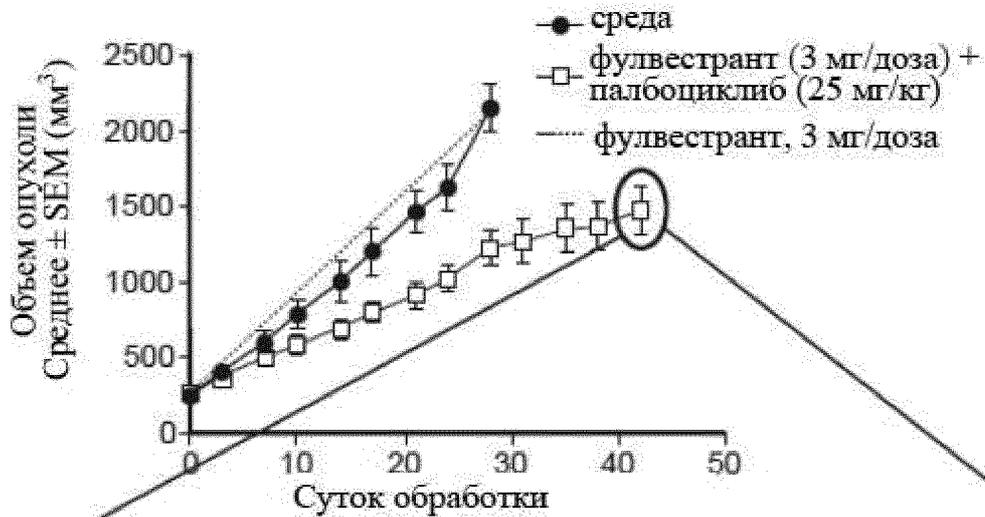


Фиг. 12А

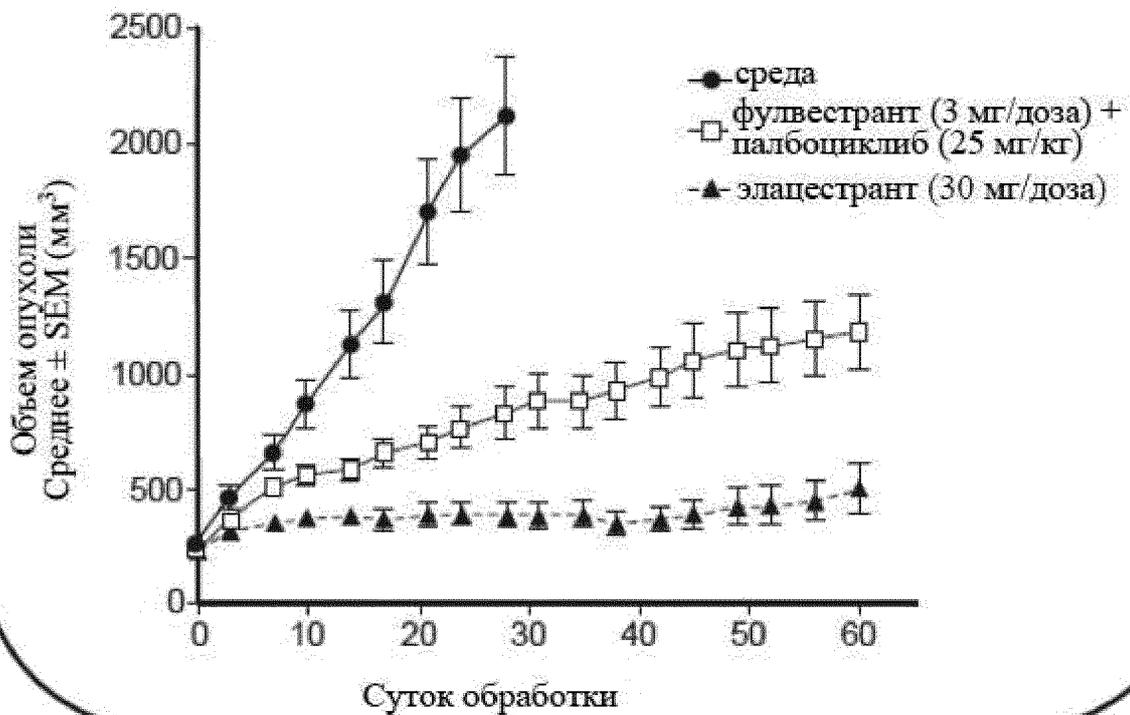
Фиг. 12В

Фиг. 12С

PDX: ST941-HI
 интактный по палбоциклибу
 исходный пассаж



PDX: ST941-HI
 обработанный
 палбоциклибом
 первый пассаж



Фиг. 13