

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202192234** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2021.11.03

(22) Дата подачи заявки
2020.02.13

(51) Int. Cl. *A61K 31/519* (2006.01)
A61K 31/337 (2006.01)
A61K 33/243 (2019.01)
A61K 31/282 (2006.01)
A61K 31/555 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ РАКА**

(31) 62/805,179

(32) 2019.02.13

(33) US

(86) PCT/US2020/018036

(87) WO 2020/168032 2020.08.20

(71) Заявитель:

ЛЕ ЛАБОРАТУАР СЕРВЬЕ САС (FR)

(72) Изобретатель:

**Хайер Марк Ли, Калев Питар,
Марджон Катя, Маркс Кевин (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемые соли, полезно, в числе прочего, для лечения МТАР-дефицитного рака легкого, такого как НМРЛ, или МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы, такого как АППЖ, или МТАР-дефицитного рака пищевода и обеспечивает терапевтическое преимущество при использовании в сочетании с другими средствами, как описано в настоящем документе, в сравнении с лечением каждым средством, вводимым отдельно.

A1

202192234

202192234

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-569738EA/022

КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ РАКА

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет на основании предварительной патентной заявки США № 62/805179, поданной 13 февраля 2019 г., содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0002] Соединение формулы (I), и его фармацевтически приемлемые соли, полезно, в числе прочего, для лечения МТАР-дефицитного рака легкого, такого как немелкоклеточный рак легкого или НМРЛ, или МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы, такого как аденокарцинома протоков поджелудочной железы или АППЖ, или МТАР-дефицитного рака пищевода и обеспечивает терапевтическое преимущество при использовании в сочетании с другими средствами, как описано в настоящем документе, в сравнении с лечением каждым средством, вводимым отдельно.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Метионин-аденозилтрансфераза (МАТ), также известная как S-аденозилметионин-синтетаза, представляет собой клеточный фермент, катализирующий синтез S-аденозилметионина (SAM или AdoMet) из метионина и АТФ; катализ считается ограничивающей скоростью стадией цикла метионина. SAM является донором пропиламиногруппы в биосинтезе полиамина, основного донора метила для метилирования ДНК, и участвует в транскрипции генов и клеточной пролиферации, а также продуцировании вторичных метаболитов.

[0004] Два гена, называемые МАТ1А и МАТ2А, кодируют две разные каталитические изоформы МАТ, соответственно. Третий ген, МАТ2В, кодирует регуляторную субъединицу МАТ2А. МАТ1А специфически экспрессируется в печени взрослых людей, в то время как МАТ2А широко распространена. Поскольку изоформы МАТ отличаются по каталитической кинетике и регуляторным свойствам, МАТ1А-экспрессирующие клетки имеют значительно более высокие уровни SAM, чем МАТ2А-экспрессирующие клетки. Было обнаружено, что гипометилирование промотора МАТ2А и ацетилирование гистонов вызывают повышающую регуляцию экспрессии МАТ2А.

[0005] В клетках печеночно-клеточной карциномы (ПКК) имеет место понижающая регуляция МАТ1А и повышающая регуляция МАТ2А, что известно как переключение МАТ1А:МАТ2А. Переключение, сопровождающееся повышающей регуляцией МАТ2В, приводит к более низкому содержанию SAM, что обеспечивает ростовое преимущество для клеток гепатомы. Поскольку МАТ2А играет решающую роль в содействии росту клеток гепатомы, она является мишенью для антинеопластической терапии. Недавние исследования показали, что подавление экспрессии гена путем использования коротких интерферирующих РНК в значительной степени подавляет рост и индуцирует апоптоз в клетках гепатомы. Смотри, например, T. Li *et al.*, J. Cancer 7(10) (2016) 1317-1327.

[0006] Некоторые линии раковых клеток, которые являются МТАР-дефицитными, особенно чувствительны к ингибированию МТА2А. Marjon *et al.* (Cell Reports 15(3) (2016) 574-587). МТАР (метилтиоаденозин фосфорилаза) представляет собой фермент, широко экспрессируемый в нормальных тканях, который катализирует превращение метилтиоаденозина (МТА) в аденин и 5-метилтиорибоза-1-фосфат. Аденин утилизируется, с образованием аденозинмонофосфата, и 5-метилтиорибоза-1-фосфат превращается в метионин и формат. Благодаря этому пути утилизации МТА может служить в качестве альтернативного источника пурина, когда *de novo* синтез пурина блокирован, например, антиметаболитами, такими как L-аланозин.

[0007] Регуляция МТА2А нарушена в клетках других видов рака, в которых отсутствует делеция МТАР, включая клетки печеночно-клеточной карциномы и лейкоза. J. Cai *et al.*, Cancer Res. 58 (1998) 1444-1450; T. S. Jani *et al.*, Cell. Res. 19 (2009) 358-369. Подавление экспрессии МТА2А посредством РНК-интерференции приводит к антипролиферативным эффектам в некоторых моделях рака. H. Chen *et al.*, Gastroenterology 133 (2007) 207-218; Q. Liu *et al.* Hepatol. Res. 37 (2007) 376-388.

[0008] Многие человеческие и мышинные злокачественные клетки лишены активности МТАР. Дефицит МТАР имеет место не только в клетках культуры тканей, но и в клетках первичного лейкоза, глиомы, меланомы, рака поджелудочной железы, немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), рака мочевого пузыря, астроцитомы, остеосаркомы, рака головы и шеи, миксоидной хондросаркомы, рака яичника, рака эндометрия, рака молочной железы, саркомы мягких тканей, неходжкинской лимфомы и мезотелиомы. Ген, кодирующий человеческую МТАР, картирован на область 9p21 на человеческой хромосоме 9p. Эта область также содержит гены опухолевых супрессоров p16INK4A (также известного как CDKN2A) и p15INK4B. Эти гены кодируют p16 и p15, которые представляют собой ингибиторы циклин D-зависимых киназ cdk4 и cdk6, соответственно.

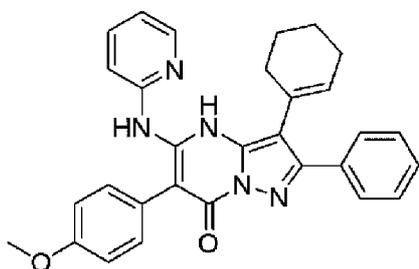
[0009] Альтернативно, транскрипт p16INK4A может в альтернативной рамке считывания (ARF) быть сплайсирован в транскрипт, кодирующий p14ARF. p14ARF связывается с MDM2 и предотвращает распад p53 (Pomerantz *et al.* (1998) Cell 92:713-723). Хромосомная область 9p21 представляет интерес, поскольку она часто гомозиготно делетирована при различных видах рака, включая лейкозы, НМРЛ, рак поджелудочной железы, глиомы, меланомы и мезотелиому. Делеции часто инактивируют более одного гена. Например, в публикации Cairns *et al.* ((1995) Nat. Gen. 11:210-212) сообщается, что после изучения более 500 первичных опухолей авторы установили, что почти все делеции, выявленные в таких опухолях, затрагивают 170-т.п.н. область, содержащую МТАР, p14ARF и P16INK4A. В публикации Carson *et al.* (WO 99/67634) сообщается, что существует корреляция между стадией развития опухоли и потерей гомозиготности гена, кодирующего МТАР, и гена, кодирующего p16. Например, делеция гена МТАР, но не p16INK4A, по сообщениям, указывает на рак на ранней стадии развития, в то время как делеция генов, кодирующих p16 и МТАР, по сообщениям, указывает на рак в более поздней стадии

развития опухоли. У некоторых пациентов с остеосаркомой ген МТАР присутствовал во время постановки диагноза, но позже был делетирован (Garcia-Castellano *et al.*, Clin. Cancer Res. 8(3) 2002 782-787).

[0010] В международной патентной заявке № PCT/US2017/049439, опубликованной в виде WO 2018/045071, описаны новые ингибиторы МТ2А, включая 3-(циклогекс-1-ен-1-ил)-6-(4-метоксифенил)-2-фенил-5-(пиридин-3-иламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-7(4Н)-он, активность которого продемонстрирована в биохимических и клеточных анализах.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0011] Соединение, 3-(циклогекс-1-ен-1-ил)-6-(4-метоксифенил)-2-фенил-5-(пиридин-3-иламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-7(4Н)-он, в настоящем документе может быть названо соединением формулы (I):



Формула (I).

Для удобства упоминания соединение также может быть названо «Соединение 1». Настоящее изобретение также охватывает фармацевтически приемлемые соли соединения формулы (I).

[0012] Соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемые соли, полезно, в числе прочего, для лечения рака легкого, такого как НМРЛ, или рака поджелудочной железы, такого как АППЖ, или рака пищевода, которые являются МТАР-дефицитными. В одном варианте осуществления соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, обеспечивает терапевтическое преимущество при использовании в сочетании с по меньшей мере одним антимиотическим средством для лечения МТАР-дефицитного рака легкого или МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы, включая МТАР-дефицитный НМРЛ или МТАР-дефицитный АППЖ, или МТАР-дефицитного рака пищевода. Соответствующие антимиотические средства включают стабилизаторы микротрубочек и средства, нарушающие контрольную точку сборки веретена. Одним примером антимиотического средства является таксан. Примеры таксанов включают паклитаксел, наб-паклитаксел или доцетаксел, или их альтернативные препараты. В другом варианте осуществления антимиотическое средство представляет собой ингибитор киназы Аугоа, включая ингибитор киназы Аугоа А или киназы Аугоа В. В следующем аспекте изобретения соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, обеспечивает терапевтическое преимущество при использовании в сочетании с ингибитором синтеза ДНК для лечения МТАР-дефицитного рака легкого, такого как НМРЛ, или МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы, такого как АППЖ.

Одним примером ингибитора синтеза ДНК является гемцитабин. В другом варианте осуществления соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и ингибитор синтеза ДНК дополнительно объединяют с таксаном для лечения МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы, включая АППЖ. Примерами таксана являются доцетаксел и паклитаксел, включая связанный с наночастицами альбумина паклитаксел. В других вариантах осуществления соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, и таксан, как считают, обеспечивают терапевтическое преимущество при использовании в сочетании для лечения МТАР-дефицитного рака пищевода. В следующем аспекте соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемые соли, обеспечивает терапевтическое преимущество при использовании в сочетании с по меньшей мере одним антиметаболитом для лечения МТАР-дефицитного рака легкого или МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы, включая МТАР-дефицитный НМРЛ или МТАР-дефицитный АППЖ, или МТАР-дефицитного рака пищевода. В другом варианте осуществления соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемые соли, может обеспечивать терапевтическое преимущество при использовании в сочетании с по меньшей мере одним антиметаболитом для лечения МТАР-дефицитной мезотелиомы. Одним примером антиметаболита является пеметрексед натрия («пеметрексед»). В других вариантах осуществления любой из вышеописанных способов лечения может включать применение одного или более дополнительных терапевтических средств, как подробно описано в настоящем документе.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0013] На Фигуре 1 представлены результаты анализа клеточного цикла в синхронизированной культуре НСТ116 МТАР^{-/-}, показывающие, что соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, ингибирует прогрессирование клеточного цикла.

[0014] На Фигуре 2 представлены результаты вестерн-блот анализа уровней Aurora В и фосфо-Ser10-H3 во время прогрессирования клеточного цикла.

[0015] На Фигурах 3А и 3В представлены результаты иммунофлуоресцентного анализа, показывающие, что соединение формулы (I) приводит к повышению уровня γ H2AX в клетках НСТ116 МТАР^{-/-}.

[0016] На Фигурах 4А и 4В представлены результаты анализа с окрашиванием DAPI, которые показывают увеличение образования микроядер.

[0017] На Фигуре 5А представлены результаты иммунофлуоресцентного анализа, показывающие митотические дефекты при воздействии соединения формулы (I). На Фигуре 5В показаны результаты анализа с окрашиванием γ H2AX для демонстрации того, что соединение формулы (I) индуцирует повреждение ДНК в клетках НСТ116 МТАР^{-/-}.

[0018] На Фигуре 6 представлены показатели синергии Лоу (Loewe Synergy Scores), определение которым дано в настоящем документе, отображенные в виде точечной диаграммы и ранжированные по среднему баллу для панели описанных клеточных линий.

[0019] На Фигуре 7 представлены результаты оценки показателя аддитивности для

соединения формулы (I) и двух разных таксановых соединений: доцетаксела и паклитаксела. Графики синергии демонстрируют действие доцетаксела и паклитаксела в сочетании с соединением формулы (I) в клетках линий H2122 и KP4.

[0020] На Фигуре 8 представлены результаты Примера 4, комбинированной терапии соединением формулы (I) и доцетакселом в модели ксенотрансплантата рака поджелудочной железы KP4.

[0021] На Фигуре 9 представлены результаты Примера 5, комбинированной терапии соединением формулы (I) и паклитакселом в модели ксенотрансплантата рака поджелудочной железы (PA0372) у самок «голых» мышей BALB/c.

[0022] На Фигуре 10 представлены результаты Примера 6, комбинированной терапии соединением формулы (I) и паклитакселом в модели рака поджелудочной железы PAX041 PDX.

[0023] На Фигуре 11 представлены результаты Примера 7, комбинированной терапии соединением формулы (I) и гемцитабином в модели рака поджелудочной железы PAX041 PDX.

[0024] На Фигуре 12 представлены результаты Примера 8, комбинированной терапии соединением формулы (I) и гемцитабином в модели рака поджелудочной железы PDX (PAX001).

[0025] На Фигуре 13 представлены результаты Примера 9, комбинированной терапии соединением формулы (I) и гемцитабином в модели рака поджелудочной железы KP4.

[0026] На Фигуре 14 представлены результаты Примера 10, комбинированной терапии соединением формулы (I) и доцетакселом в модели НМРЛ PDX (LU6412).

[0027] На Фигуре 15 представлены результаты Примера 11, комбинированной терапии соединением формулы (I) и доцетакселом в модели НМРЛ PDX (CTG-1194).

[0028] На Фигуре 16 представлены результаты Примера 12, комбинированной терапии соединением формулы (I) и паклитакселом в модели рака поджелудочной железы PDX (PAX001).

[0029] На Фигуре 17 представлены результаты Примера 13, комбинированной терапии соединением формулы (I) и доцетакселом в модели рака пищевода PDX (ES2263).

[0030] На Фигуре 18 представлены результаты Примера 14, комбинированной терапии соединением формулы (I) и гемцитабином в модели рака поджелудочной железы PDX (PAX041).

[0031] На Фигуре 19 представлены результаты Примера 15, комбинированной терапии соединением формулы (I) и гемцитабином в модели рака поджелудочной железы PDX (PAX001).

[0032] На Фигуре 20 представлены результаты Примера 16, комбинированной терапии соединением формулы (I) и гемцитабином в модели ксенотрансплантата опухоли поджелудочной железы (KP4).

[0033] На Фигуре 21 представлены результаты Примера 18, комбинированной

терапии соединением формулы (I) и гемцитабином в модели НМРЛ PDX (LU6431).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0034] Как указано выше в настоящем документе и в другом разделе заявки, соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемые соли, полезно, в числе прочего, для лечения МТАР-дефицитного рака легкого, такого как НМРЛ, или МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы, такого как АППЖ, или для лечения МТАР-дефицитного рака пищевода.

[0035] В одном варианте осуществления соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, может обеспечивать терапевтическое преимущество при использовании в сочетании с по меньшей мере одним антимитотическим средством для лечения МТАР-дефицитного рака легкого или МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы, более конкретно, МТАР-дефицитного НМРЛ или МТАР-дефицитного АППЖ, или для лечения МТАР-дефицитного рака пищевода. Соответствующие антимитотические средства включают стабилизаторы микротрубочек и средства, нарушающие контрольную точку сборки веретена. В некоторых вариантах осуществления антимитотическое средство представляет собой таксан. В некоторых вариантах осуществления примеры таксана включают доцетаксел и паклитаксел, в том числе связанный с наночастицами альбумина паклитаксел (наб-паклитаксел). В других вариантах осуществления антимитотическое средство представляет собой ингибитор киназы Aurora, включая ингибитор киназы Aurora A или киназы Aurora B.

[0036] В следующем аспекте изобретения соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, обеспечивает терапевтическое преимущество при использовании в сочетании с ингибитором синтеза ДНК для лечения МТАР-дефицитного рака легкого, такого как НМРЛ, или МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы, такого как АППЖ. В некоторых вариантах осуществления ингибитор синтеза ДНК представляет собой гемцитабин. В другом варианте осуществления соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и ингибитор синтеза ДНК дополнительно объединяют с таксаном для лечения МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы, такого как АППЖ. В некоторых вариантах осуществления примеры таксана включают доцетаксел и паклитаксел, в том числе связанный с наночастицами альбумина паклитаксел.

[0037] В другом варианте осуществления соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, обеспечивает терапевтическое преимущество при использовании в сочетании с антимитотическим средством для лечения МТАР-дефицитного рака пищевода. В некоторых вариантах осуществления антимитотическое средство представляет собой таксан. В некоторых вариантах осуществления таксаны включают доцетаксел и паклитаксел, в том числе связанный с наночастицами альбумина паклитаксел. В другом варианте осуществления для лечения МТАР-дефицитного рака пищевода соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и таксан используют в дополнительном сочетании с химиотерапевтическим средством на основе платины. В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство на основе

платины представляет собой цисплатин, карбоплатин и/или оксалиплатин. В других вариантах осуществления соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и таксан используют в дополнительном сочетании с химиотерапевтическим средством на основе платины и антиметаболитом. В некоторых вариантах осуществления антиметаболит представляет собой 5-фторурацил и/или капецитабин.

[0038] В других вариантах осуществления соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, обеспечивает терапевтическое преимущество при использовании в сочетании с антиметаболитом для лечения МТАР-дефицитного рака легкого или МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы, или МТАР-дефицитного рака пищевода. В некоторых вариантах осуществления МТАР-дефицитный рак легкого представляет собой НМРЛ. В других вариантах осуществления НМРЛ представляет собой распространенный неплоскоклеточный НМРЛ. В некоторых вариантах осуществления антиметаболит представляет собой пеметрексед. В других вариантах осуществления соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и пеметрексед используют в дополнительном сочетании с химиотерапевтическим средством на основе платины. В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой цисплатин, карбоплатин и/или оксалиплатин. В других вариантах осуществления соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и пеметрексед используют в дополнительном сочетании с химиотерапевтическим средством на основе платины и ингибитором иммунных контрольных точек PD-L1, таким как пембролизумаб.

[0039] В других вариантах осуществления соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, обеспечивает терапевтическое преимущество при использовании в сочетании с антиметаболитом для лечения МТАР-дефицитной мезотелиомы. В некоторых вариантах осуществления антиметаболит представляет собой пеметрексед. В других вариантах осуществления соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и пеметрексед используют в дополнительном сочетании с химиотерапевтическим средством на основе платины. В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой цисплатин, карбоплатин и/или оксалиплатин.

[0040] В дополнительных вариантах осуществления любого из вышеописанных способов лечения соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и одно или более дополнительных терапевтических средств можно вводить одновременно. В дополнительных вариантах осуществления любого из вышеописанных способов лечения соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и одно или более дополнительных терапевтических средств можно вводить последовательно. В других вариантах осуществления любого из вышеописанных способов лечения соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, вводят перорально. В следующих вариантах осуществления любого из вышеописанных способов лечения соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, вводят один раз или два раза в

сутки.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0041] Выражение «МТАР-дефицитный» рак легкого или «МТАР-дефицитный» рак поджелудочной железы, или «МТАР-дефицитный» рак пищевода относится к раку легкого или поджелудочной железы, или пищевода, в клетках которого отсутствует активность метаболического фермента метилтиоаденозин фосфорилазы (МТАР). Таким образом, МТАР-дефицитный рак легкого или МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы, или МТАР-дефицитный рак пищевода возникает в случае невозможности экспрессии гена МТАР, что можно оценивать на основании отсутствия гена МТАР, отсутствия экспрессии белка МТАР или на основании накопления субстрата МТАР - МТА. В некоторых вариантах осуществления термин «МТАР-дефицитный» означает «МТАР-лишенный» и/или «МТАР-нулевой» и, таким образом, термины могут быть использованы взаимозаменяемо. Например, в некоторых вариантах осуществления выражение «МТАР-лишенный» или «МТАР-нулевой» рак легкого, или «МТАР-лишенный» или «МТАР-нулевой» рак поджелудочной железы, или «МТАР-лишенный» или «МТАР-нулевой» рак пищевода означает утрату в хромосоме гена МТАР, что приводит к полной или частичной утрате ДНК МТАР, что предотвращает экспрессию функционального полноразмерного белка МТАР. В некоторых вариантах осуществления МТАР-дефицитный рак легкого или МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы представляет собой рак легкого или поджелудочной железы, например, НМРЛ или АППЖ, в клетках которого ген МТАР был делетирован, утрачен или иным образом дезактивирован. Аналогично, МТАР-дефицитный рак пищевода представляет собой рак пищевода, в клетках которого ген МТАР был делетирован, утрачен или иным образом дезактивирован. В некоторых вариантах осуществления МТАР-дефицитный рак легкого, такой как НМРЛ, или МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы, такой как АППЖ, представляет собой рак легкого или поджелудочной железы, в клетках которого белок МТАР имеет сниженную функцию или функционально недееспособен в сравнении с геном МТАР дикого типа. Аналогично, в некоторых вариантах осуществления МТАР-дефицитный рак пищевода представляет собой рак пищевода, в клетках которого белок МТАР имеет сниженную функцию или функционально недееспособен в сравнении с геном МТАР дикого типа. Соответственно, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения МТАР-дефицитного рака легкого, такого как НМРЛ, или МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы, такого как АППЖ, или МТАР-дефицитного рака пищевода у субъекта, где рак легкого или поджелудочной железы, или пищевода характеризуется по меньшей мере одним из (i) снижения или отсутствия экспрессии МТАР; (ii) отсутствия гена МТАР и (iii) снижения функции белка МТАР, в сравнении с раком легкого или поджелудочной железы, в клетках которых ген и/или белок МТАР присутствует и полностью функционирует, или в сравнении с раком легкого или поджелудочной железы с геном МТАР дикого типа.

[0042] Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически

приемлемая соль» означает фармацевтически приемлемую соль органической или неорганической кислоты или основания соединения по изобретению. Репрезентативные фармацевтически приемлемые соли включают, например, соли щелочных металлов, соли щелочноземельных металлов, соли аммония, водорастворимые и нерастворимые в воде соли, такие как ацетат, амсонат (4,4-диаминостилбен-2,2-дисульфат), бензолсульфонат, бензонат, бикарбонат, бисульфат, битартрат, борат, бромид, бутират кальция, эдетат кальция, камсилат, карбонат, хлорид, цитрат, клавуларият, дигидрохлорид, эдетат, эдизилат, эстолат, эсилат, фумарат, глутептат, глюконат, глутамат, гликоллиларсанилат, гексафторфосфат, гексилрезорцинат, гидрабамин, гидробромид, гидрохлорид, гидроксинафтоат, иодид, изотионат, лактат, лактобионат, лаурат, малат, малеат, манделат, мезилат, метилбромид, метилнитрат, метилсульфат, мукат, напзилат, нитрат, N-метилглюкаминаммониевая соль, 3-гидрокси-2-нафтоат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат (1,1-метен-бис-2-гидрокси-3-нафтоат, эйнбонат), пантотенат, фосфат/дифосфат, пикрат, полигалактуронат, пропионат, п-толуолсульфонат, салицилат, стеарат, субацетат, сукцинат, сульфат, сульфосалицилат, сурамат, таннат, тартрат, теоклат, тозилат, триэтиодид и валерат. Фармацевтически приемлемая соль может иметь более одного заряженного атома в ее структуре. В таком случае фармацевтически приемлемая соль может иметь несколько противоионов. Таким образом, фармацевтически приемлемая соль может иметь один или более заряженных атомов и/или один или более противоионов.

[0043] Термины «лечить», «лечение» и «терапия» означают облегчение или устранение заболевания или симптомов, связанных с заболеванием. В конкретных вариантах осуществления такие термины означают минимизацию распространения или ухудшения заболевания в результате введения одного или более профилактических или терапевтических средств пациенту с таким заболеванием.

[0044] Термины «предотвращать», «предотвращение» и «профилактика» означают предотвращение или отсрочку начала, рецидива или распространения заболевания у пациента в результате введения профилактического или терапевтического средства.

[0045] Термин «эффективное количество» означает количество соединения формулы (I) или другого активного ингредиента, достаточное для обеспечения терапевтической или профилактической пользы при лечении или предотвращении заболевания, либо для отсрочки или минимизации симптомов, связанных с заболеванием. Кроме того, терапевтически эффективное количество в случае соединения формулы (I) означает количество терапевтического средства отдельно, или в сочетании с другими терапевтическими средствами, которое обеспечивает терапевтическую пользу при лечении или предотвращении заболевания. Термины могут включать количество, улучшающее общий терапевтический исход, способствующее облегчению или устранению симптомов или причин заболевания, либо повышающее терапевтическую эффективность другого терапевтического средства или действующее синергически с ним.

[0046] Термин «пациент», или «субъект», охватывает животных, таких как человек, корова, лошадь, овца, ягненок, свинья, курица, индейка, перепел, кошка, собака, мышь,

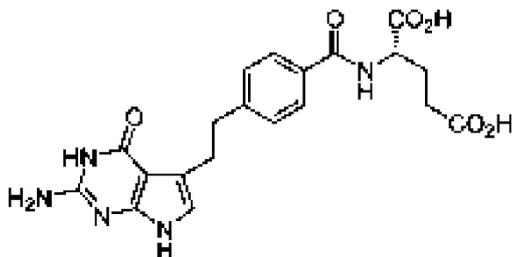
крыса, кролик или морская свинка. В некоторых вариантах осуществления животное является млекопитающим, таким как не примат и примат (например, обезьяна и человек). В одном варианте осуществления пациент является человеком, например, новорожденным, младенцем, ребенком, подростком или взрослым. В одном варианте осуществления пациент является пациентом-ребенком, включая пациента от рождения до восемнадцати лет. В одном варианте осуществления пациент является пациентом-подростком, где подросток является пациентом в возрасте от 12 до 17 лет. В одном варианте осуществления пациент является взрослым пациентом. В другом варианте осуществления термины, относящиеся к возрасту пациента, используют в соответствии с применимыми нормативными указаниями, такими как, например, руководство, разработанное FDA США, где новорожденные имеют возраст от рождения до одного месяца, младенцы от одного месяца до двух лет; дети от двух лет до двенадцати лет и подростки от двенадцати до шестнадцати лет.

[0047] «Ингибитор» означает соединение, предотвращающее или снижающее уровень синтеза SAM. В одном из вариантов осуществления ингибитор связывается с MAT2A.

[0048] Вводимое «терапевтически эффективное количество» соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, может определяться такими соображениями, как минимальное количество, необходимое для оказания цитотоксического эффекта или для ингибирования активности MAT2A, или и того, и другого. Такое количество может быть ниже количества, токсичного для нормальных клеток или пациента в целом. Как правило, начальное терапевтически эффективное количество соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, которое следует вводить, находится в диапазоне от примерно 0,01 до примерно 200 мг/кг или от примерно 0,1 до примерно 20 мг/кг массы тела пациента в сутки, с типичным начальным диапазоном, составляющим от примерно 0,3 до примерно 15 мг/кг/сутки. Пероральные стандартные лекарственные формы, такие как таблетки и капсулы, могут содержать от примерно 1 мг до примерно 1000 мг соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли. В другом варианте осуществления такие лекарственные формы могут содержать от примерно 20 мг до примерно 800 мг соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли. В другом варианте осуществления такие лекарственные формы могут содержать примерно 20 мг, 25 мг, 50 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 450 мг, 500 мг, 550 мг, 600 мг, 650 мг, 700 мг, 750 мг или 800 мг соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли. В другом аспекте дозу определяют как количество, соответствующее количеству эквивалента свободной формы соединения формулы (I). Используемый в настоящем документе термин «эквивалент свободной формы» означает количество соединения формулы (I), присутствующее либо в свободной форме (или форме свободного основания), либо в форме соли, которое соответствует конкретному количеству свободной формы соединения формулы (I). В следующем аспекте введение терапевтически эффективного количества

соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, включает обстоятельства, когда сочетание, то есть, соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и одно или более дополнительных терапевтических средств, вводят в течение определенного периода и на протяжении определенного отрезка времени. В некоторых вариантах осуществления лекарственную форму, содержащую соединение формулы (I), или его фармацевтическую соль, вводят один раз в сутки. В других вариантах осуществления лекарственную форму вводят два раза в сутки. Используемый в настоящем документе термин «ежедневное дозирование» означает конкретный график дозирования для соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, который используют в течение двадцатичетырехчасового периода.

[0049] Используемый в настоящем документе термин «пеметрексед» означает (2S)-2-[[4-[2-(2-амино-4-оксидо-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-ил)этил]бензоил]амино]пентандиовую кислоту, имеющую следующую структуру. Термин «пеметрексед» также включает его фармацевтически приемлемые соли, такие как пеметрексед динатрия, доступный под названием алимта®.



[0050] Положительные терапевтические эффекты при раке можно определять множеством способов. Введение терапевтически эффективного количества сочетаний, описанных в настоящем документе, обладает преимуществом перед индивидуальным введением соединений-компонентов. Используемый в настоящем документе термин «полезные сочетания» означает сочетания, которые обеспечивают по меньшей мере одно из следующих улучшенных свойств в сравнении с индивидуальным введением терапевтически эффективного количества соединения-компонента: i) больший противораковый эффект, чем у отдельного наиболее активного средства; ii) синергический противораковый эффект или iii) аддитивную активность.

[0051] В некоторых вариантах осуществления синергию определяют с использованием по меньшей мере одной из моделей, описанных в настоящем документе. Эффекты сочетания можно характеризовать путем сравнения каждой точки данных с таковой в эталонной модели для сочетания, которую получают из кривых для отдельных средств. Как правило, используют три модели: (1) наивысшее отдельное средство, которое представляет собой простую эталонную модель, где ожидаемый эффект сочетания представляет собой максимальные ответы в случае отдельных средств при соответствующих концентрациях; (2) модель независимых эффектов Блисса, которая представляет собой статистическое ожидание для независимых конкурирующих ингибиторов; (3) модель аддитивности Лоу, которая представляет собой ожидаемый ответ

в случае, если оба средства фактически представляют собой одно и то же соединение; (4) модель Чоу-Талалай, в которой производят оценки на основании данных зависимости эффекта от дозы в случае индивидуальных или комбинированных вариантов лечения, и представляют в виде показателя аддитивности (CI) в баллах; либо сочетания одной или более моделей.

[0052] Модель аддитивности Лоу является наиболее общепринятой моделью для определения синергии и, таким образом, была использована модель аддитивности Лоу, и на ее основе был получен показатель, называемый в настоящем документе «показатель синергии Лоу».

Модель аддитивности Лоу

[0053] Модель аддитивности Лоу основана на дозах и применима только к уровням активности, достигаемым одиночными средствами. Объем Лоу используют для оценки общей величины комбинированного взаимодействия, превышающей модель аддитивности Лоу. Объем Лоу особенно полезен при определении синергического увеличения фенотипической активности (положительный объем Лоу) против синергических антагонизмов (отрицательный объем Лоу). Когда наблюдается антагонизм, следует оценивать объем Лоу для определения того, имеется ли какая-либо корреляция между антагонизмом и целевой активностью конкретного терапевтического средства или клеточным генотипом. Данная модель определяет аддитивность как не синергическое взаимодействие сочетания, где поверхность матрицы комбинированной дозы должна быть неотличима от таковой для любого препарата, скрещенного с самим собой. Расчет аддитивности Лоу производят следующим образом

$$I_{\text{Лоу}}, \text{ которое удовлетворяет } (X/X_1) + (Y/Y_1) = 1$$

где X_1 and Y_1 представляют собой эффективные концентрации отдельных средств для наблюдаемого эффекта сочетания I . Например, если 50% достигается отдельно при использовании 1 мкМ лекарственного средства А или 1 мкМ лекарственного средства В, сочетание 0,5 мкМ А и 0,5 мкМ В также должно ингибировать на 50%.

[0054] Активность, наблюдаемая сверх аддитивности Лоу, указывает на потенциальное синергическое взаимодействие. Для настоящего анализа эмпирически полученные матрицы сочетаний были сопоставлены с их соответствующими моделями аддитивности Лоу, созданными на основе экспериментально полученных кривых зависимости ответа от дозы для отдельных средств. Сумму этой избыточной аддитивности по матрице доза-ответ называют объемом Лоу. Положительный объем Лоу предполагает потенциальную синергию, в то время как отрицательный объем Лоу предполагает потенциальный антагонизм.

Показатель синергии Лоу

[0055] С целью определения эффектов сочетаний сверх аддитивности Лоу для характеристики силы синергического взаимодействия была разработана скалярная мера, называемая в настоящем документе «показатель синергии Лоу». Показатель синергии Лоу рассчитывают следующим образом:

Показатель синергии $Loy = \log f_x \log f_Y \sum \max(0, I_{\text{данные}})(I_{\text{данные}} - I_{Loy})$

[0056] Фракционное ингибирование для точки каждого средства-компонента и сочетания в матрице рассчитывают относительно медианы всех необработанных/обработанных растворителем контрольных лунок. Формула для показателя синергии Лоу интегрирует экспериментально наблюдаемый объем активности в каждой точке матрицы, превышающий поверхность модели, численно полученную из активности средств-компонентов с использованием модели Лоу для аддитивности. Дополнительные члены в уравнении для показателя синергии Лоу (выше) используют для нормализации на различные коэффициенты разбавления, используемые для отдельных средств, и для возможности сравнения показателей синергии во всем эксперименте. Включение установки дискриминационного окна на положительное ингибирование или множителя $I_{\text{данные}}$ устраняет шум вблизи нулевого уровня эффекта и смещает результаты для синергетических взаимодействий в сторону тех, которые имеют место при высоких уровнях активности. Сочетания с более высокими максимальными эффектами ингибирования роста (ИР) или те, которые являются синергическими при низких концентрациях, будут иметь более высокие показатели синергии Лоу.

[0057] Как показано в приведенных ниже примерах, проводили дополнительный модифицированный статистический анализ соединений для определения того, приводит ли использование соединения формулы (I) при объединении с антимиотическим средством или ингибитором синтеза ДНК к противоопухолевым полезным эффектам сочетания. Показатель синергии может быть назван «*in vivo* показателем синергии».

[0058] Более подробно, *in vivo* методология для данного анализа сочетания является следующей: входные данные состоят из объемов опухоли от каждого животного в последовательные моменты времени. Для каждого объема опухоли, добавляют 1 и берут логарифм по основанию 10. Для каждого животного вычитают $\log(\text{объем опухоли}+1)$ в самой ранней временной точке из $\log(\text{объем опухоли}+1)$ в каждой временной точке. Используют зависимость полученной разницы от времени для расчета значения площади под кривой (AUC) для каждого животного с использованием правила трапеции. Рассчитывают среднее значение AUC для каждой группы. *In vivo* показатель синергии = $100 \times (\text{средняяAUCAB} - \text{средняяAUCA} - \text{средняяAUCB} + \text{средняяAUCV}) / \text{средняяAUCV}$, где средняяAUCAB, средняяAUCA, средняяAUCB и средняяAUCV представляют собой средние значения AUC для группы сочетания, группы одного средства А, группы одного средства В и группы растворителя/контроля, соответственно. Используя значения AUC для отдельных животных, выполняют статистический анализ ANOVA для определения того, не равен ли *in vivo* показатель синергии нулю, получая р-значение. Чтобы сочетание считалось синергическим, *in vivo* показатель синергии должен быть <0 ; *in vivo* показатель синергии, равный 0, означает четкую аддитивность. По мере возрастания *in vivo* показателя синергии до значений выше 0 показатель смещается от аддитивности в сторону антагонизма. Если р-значение выше 0,05, сочетание считают аддитивным. Если р-значение ниже 0,05, и *in vivo* показатель синергии составляет менее нуля, сочетание считают синергическим. Если р-

значение ниже 0,05, *in vivo* показатель синергии выше нуля и среднее значение AUC для сочетания ниже, чем самое низкое среднее значение AUC для отдельных средств, сочетание считают субаддитивным. Если р-значение ниже 0,05, *in vivo* показатель синергии выше нуля и среднее значение AUC для сочетания выше, чем среднее значение AUC для по меньшей мере одного из отдельных средств, сочетание считают антагонистическим.

Модель Чоу-Талалай

[0059] Альтернативной моделью синергии является оценка взаимодействий терапевтических средств с использованием модели Чоу-Талалай, которая была представлена в 1983 г., и которая позволяет оценивать взаимодействия между двумя лекарственными средствами в исследованиях сочетания, с получением показателя, называемого в настоящем документе «показателем аддитивности (CI)». В соответствии с данной моделью взаимодействия оценивают на основании данных зависимости эффекта от дозы в случае индивидуальных или комбинированных вариантов лечения, и представляют в виде показателя аддитивности (CI) в баллах. CI определяют как $(D1/EDx1) + (D2/EDx2)$, где EDx1 (или EDx2) представляет собой дозу терапевтического средства 1 (или терапевтического средства 2) в виде единственного средства, которая приводит к выбранному эффекту x (например, 50% ингибированию роста), а D1 и D2 представляют собой дозы лекарственных средств 1 и 2, которые также приводят к эффекту x при использовании их в сочетании. Для конкретной пары соединений были исследованы несколько сочетаний доз (в матричной схеме), для определения пары D1/D2, которая дает наименьший CI.

$$CI = \frac{D_1}{(D_m)_1} + \frac{D_2}{(D_m)_2}$$

[0060] Если $CI < 1$, два лекарственных средства имеют синергический эффект, если $CI > 1$, лекарственные средства имеют антагонистический эффект. Наконец, $CI = 1$ указывает на то, что лекарственные средства имеют аддитивный эффект. См. публикацию Chou, T. C. & Talalay, P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Adv. Enzyme Regul.* **22**, 27-55 (1984).

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ

[0061] Изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, в смеси с фармацевтически приемлемым носителем. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит, в соответствии с принятой практикой формулирования фармацевтических препаратов, одно или более дополнительных терапевтических средств, фармацевтически приемлемые эксципиенты, разбавители, адьюванты, стабилизаторы, эмульгаторы, консерванты, красители, буферы, ароматизирующие средства.

[0062] Фармацевтическую композицию соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, формулируют, разделяют на дозы и вводят в

соответствии с надлежащей медицинской практикой. Факторы, которые следует учитывать в данном контексте, включают конкретное заболевание, подвергаемое лечению, конкретного пациента, получающего лечение, клиническое состояние пациента, причину заболевания, зону доставки средства, способ введения, расписание введения и другие факторы, известные практикующим врачам.

[0063] Фармацевтические композиции могут быть введены перорально, топически, парентерально, путем ингаляции или с помощью спрея, либо ректально в стандартных лекарственных формах. Используемый в настоящем документе термин «парентеральное» введение охватывает подкожные инъекции, внутривенные, внутримышечные или внутригрудные инъекции, или инфузии.

[0064] Соответствующие пероральные композиции по изобретению включают, без ограничения, таблетки, лепешки, пастилки, водные или масляные суспензии, диспергируемые порошки или гранулы, эмульсии, твердые или мягкие капсулы, сиропы или эликсиры.

[0065] Фармацевтические композиции могут быть подходящими для стандартных лекарственных форм, которые содержат соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемый носитель.

[0066] Фармацевтические композиции, подходящие для перорального использования, могут быть изготовлены любым способом, известным в данной области для производства фармацевтических композиций. Например, жидкие препараты могут содержать одно или более средств, выбранных из группы, состоящей из подсластителей, ароматизаторов, красителей и консервантов, предназначенных для получения фармацевтически адекватных и/или приятных на вкус препаратов.

[0067] Для таблетированных композиций соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, может быть сформулировано в смеси с нетоксичными фармацевтически приемлемыми эксципиентами, используемыми в производстве таблеток. Примеры таких эксципиентов включают, без ограничения, инертные разбавители, такие как карбонат кальция, карбонат натрия, лактоза, фосфат кальция или фосфат натрия; гранулирующие и дезинтегрирующие средства, например, кукурузный крахмал или альгиновую кислоту; связывающие вещества, например, крахмал, желатин или гуммиарабик, и смазывающие средства, например, стеарат магния, стеариновую кислоту или тальк. Таблетки могут быть без покрытия или на них может быть нанесено покрытие известными методами нанесения покрытия для отсрочки распада и абсорбции в желудочно-кишечном тракте и, таким образом, обеспечения замедленного терапевтического действия в течение нужного периода времени. Например, можно использовать материал, замедляющий высвобождение, такой как глицерилмоностеарат или глицерилдистеарат.

[0068] Препараты для перорального применения также могут быть предложены в виде твердых желатиновых капсул, в которых активный ингредиент смешан с инертным твердым разбавителем, например, карбонатом кальция, фосфатом кальция или каолином, или в виде мягких желатиновых капсул, в которых активный ингредиент смешан с водной

или масляной средой, например, арахисовым маслом, вазелиновым маслом или оливковым маслом.

[0069] В случае водных суспензий соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, может быть смешано с эксципиентами, подходящими для поддержания стабильной суспензии. Примеры таких эксципиентов включают, без ограничения, натрий-карбоксиметилцеллюлозу, метилцеллюлозу, гидропропилметилцеллюлозу, альгинат натрия, поливинилпирролидон, трагакантовую камедь и гуммиарабик.

[0070] Пероральные суспензии также могут содержать диспергирующие или увлажняющие средства, такие как натуральный фосфатид, например, лецитин, или продукты конденсации алкиленоксида с жирными кислотами, например, полиоксиэтиленстеарат, или продукты конденсации этиленоксида с длинноцепочечными алифатическими спиртами, например, гептадекаэтиленоксицетанол, или продукты конденсации этиленоксида с частичными сложными эфирами, полученными из жирных кислот и гексита, например, полиоксиэтилен сорбитан моноолеат, или продукты конденсации этиленоксида с частичными сложными эфирами, полученными из жирных кислот и ангидридов гексита, например, моноолеат полиэтиленсорбитана. Водные суспензии также могут содержать один или более консервантов, например, этил, или н-пропил-п-гидроксибензоат, один или более красителей, один или более ароматизаторов, а также один или более подсластителей, таких как сахароза или сахарин.

[0071] Масляные суспензии могут быть сформулированы путем суспендирования соединения по настоящему изобретению в растительном масле, например, арахисовом масле, оливковом масле, кунжутном масле или кокосовом масле, или в минеральном масле, таком как вазелиновое масло. Масляные суспензии могут содержать загуститель, например, пчелиный воск, твердый парафин или цетиловый спирт.

[0072] Подсластители, такие как те, которые указаны выше, и ароматизаторы могут быть добавлены для обеспечения приятного вкуса пероральных препаратов. Эти композиции могут быть консервированы путем добавления антиоксиданта, такого как аскорбиновая кислота.

[0073] Диспергируемые порошки и гранулы, подходящие для получения водной суспензии путем добавления воды, предоставляют соединение по настоящему изобретению в смеси с диспергирующим или увлажняющим средством, суспендирующим средством и одним или более консервантами. Примеры подходящих диспергирующих или увлажняющих средств и суспендирующих средств упомянуты выше. Также могут присутствовать дополнительные эксципиенты, например, подсластители, ароматизаторы и красители.

[0074] Фармацевтические композиции по настоящему изобретению также могут находиться в форме эмульсий типа масло-в-воде. Масляная фаза может представлять собой растительное масло, например, оливковое масло или арахисовое масло, или минеральное масло, например, вазелиновое масло, либо их смеси. Подходящие эмульгаторы могут

представлять собой натуральные камеди, например, гуммиарабик или трагакантовую камедь, натуральные фосфатиды, например, соевый лецитин, а также сложные эфиры или частичные сложные эфиры, полученные из жирных кислот и гексита, ангидриды, например, сорбитан моноолеат, а также продукты реакции конденсации указанных частичных сложных эфиров с этиленоксидом, например, моноолеат полиоксиэтиленсорбитана. Эмульсии также могут содержать подсластители и ароматизаторы.

[0075] Сиропы и эликсиры могут быть сформулированы с подсластителями, например, глицерином, пропиленгликолем, сорбитом или сахарозой. Такие препараты также могут содержать смягчающее средство, консервант или ароматизаторы и красители. Фармацевтические композиции могут находиться в форме стерильной инъекционной водной суспензии или маслянистой суспензии. Такая суспензия может быть сформулирована способом, известным в данной области, с использованием тех подходящих диспергирующих или увлажняющих средств и суспендирующих средств, которые были упомянуты выше. Стерильный инъекционный препарат также может представлять собой стерильный инъекционный раствор или суспензию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, в виде раствора в 1,3-бутандиоле. Приемлемые носители и растворители, которые могут быть использованы, включают воду, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве растворителя или суспензионной среды могут быть использованы стерильные нелетучие масла. Для этой цели может быть использовано любое мягкое нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, при изготовлении инъекционных препаратов могут быть использованы жирные кислоты, такие как олеиновая кислота.

[0076] Соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, также можно вводить в форме суппозитория для ректального введения терапевтического средства. Эти композиции могут быть получены путем смешивания терапевтического средства с соответствующим нераздражающим эксципиентом, который является твердым при обычных температурах, но жидким при ректальной температуре и, следовательно, будет плавиться в прямой кишке, высвобождая терапевтическое средство. Такими материалами являются масло какао и полиэтиленгликоли.

[0077] Композиции для парентерального введения вводят в стерильной среде. В зависимости от используемого носителя и концентрации лекарственного средства в препарате парентеральный препарат может представлять собой либо суспензию, либо раствор, содержащий растворенное лекарственное средство. В парентеральные композиции также можно добавлять адъюванты, такие как местные анестетики, консерванты и буферные средства.

СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ

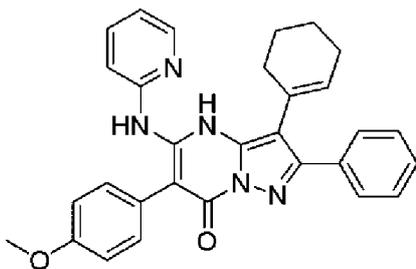
[0078] Как отмечено выше в настоящем документе, соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, может быть использовано, например, для лечения рака легкого, такого как НМРЛ, или рака поджелудочной железы, такого как АППЖ, или рака пищевода, которые являются МТАР-дефицитными. В одном варианте осуществления

соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, обеспечивает терапевтическое преимущество при использовании в сочетании с по меньшей мере одним антимитотическим средством для лечения МТАР-дефицитного рака легкого, такого как НМРЛ, или МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы, такого как АППЖ, или МТАР-дефицитного рака пищевода. Соответствующие антимитотические средства включают стабилизаторы микротрубочек и средства, нарушающие контрольную точку сборки веретена. Одним примером антимитотического средства является таксан. Одним примером антимитотического средства является ингибитор киназы Auroга, включая ингибитор киназы Auroга А или киназы Auroга В.

[0079] Изобретение также относится к применению соединений формулы (I), или их фармацевтически приемлемых солей, в лечении мезотелиомы. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I), или их фармацевтически приемлемые соли, обеспечивают терапевтическое преимущество при использовании в сочетании с антиметаболитом для лечения МТАР-дефицитной мезотелиомы. Соответствующие антиметаболиты включают пеметрексед или его фармацевтически приемлемые соли. В других вариантах осуществления соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и пеметрексед используют в дополнительном сочетании с химиотерапевтическим средством на основе платины. В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, триплатина тетранитрат, фенантриплатин, пикоплатин или сатраплатин. В других вариантах осуществления химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой карбоплатин или цисплатин.

[0080] В клинической практике таксаны, такие как доцетаксел и паклитаксел, часто используют в сочетании с другими химиотерапевтическими средствами. Например, связанный с наночастицами альбумина паклитаксел (известный как наб-паклитаксел или абраксан[®]) широко используют для лечения аденокарциномы протоков поджелудочной железы (АППЖ) в сочетании с нуклеозидным аналогом, ингибитором синтеза ДНК гемцитабином (гемзар[®]). Таким образом, в следующем аспекте применение соединения формулы (I) в сочетании с ингибитором синтеза ДНК и таксаном обеспечивает терапевтическое преимущество при лечении МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы, такого как АППЖ. Одним примером ингибитора синтеза ДНК является гемцитабин. Одним примером таксана является паклитаксел, включая связанный с наночастицами альбумина паклитаксел. Другим примером таксана является доцетаксел.

[0081] В одном варианте осуществления способ, или применение, включает лечение МТАР-дефицитного рака легкого, такого как немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), у пациента, который нуждается в этом, включающее введение: (а) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):

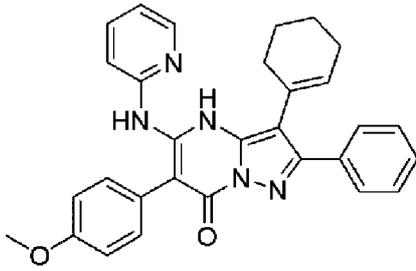


Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и (b) терапевтически эффективного количества таксана.

[0082] В одном аспекте таксан представляет собой доцетаксел, паклитаксел или наб-паклитаксел, либо их альтернативные препараты. В одном аспекте таксан представляет собой доцетаксел. В одном аспекте способ, или применение, дополнительно включает одно или более дополнительных терапевтических средств. В одном аспекте дополнительное терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое средство на основе платины. В одном аспекте химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой цисплатин, карбоплатин, оксаплатин, надаплатин, триплатина тетранитрат, фенантриплатин, пикоплатин или сатраплатин. В одном аспекте химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой карбоплатин или цисплатин. В одном аспекте способ, или применение, дополнительно включает терапевтически эффективное количество ингибитора синтеза ДНК. В одном аспекте ингибитор синтеза ДНК представляет собой гемцитабин. В одном аспекте рак легкого является МТАР-лишенным или МТАР-нулевым. В одном аспекте пациент неспособен отвечать, перестал отвечать на лечение или испытывает прогрессирование заболевания после одной или более предшествующих линий терапии. В одном аспекте введение соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, представляет собой вторую линию терапии в лечении МТАР-дефицитного рака легкого. В одном аспекте введение соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, представляет собой третью линию терапии в лечении МТАР-дефицитного рака легкого. В одном аспекте пациенту впервые поставлен диагноз. В одном аспекте доза соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, составляет от примерно 20 мг до примерно 800 мг. В одном аспекте доза составляет примерно 20 мг, 25 мг, 50 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 450 мг, 500 мг, 550 мг, 600 мг, 650 мг, 700 мг, 750 мг или 800 мг. В одном аспекте дозирование выбрано из дозирования один раз или два раза в сутки. В одном аспекте введение является пероральным. В другом аспекте дозу определяют как количество, соответствующее количеству эквивалента свободной формы соединения формулы (I).

[0083] В одном варианте осуществления способ, или применение, включает лечение МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы у пациента, который нуждается в этом, включающее введение: (a) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):

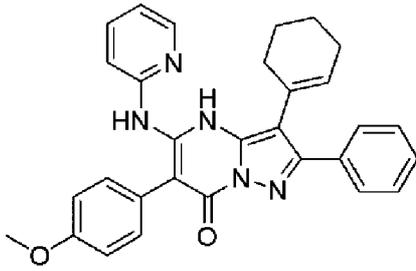


Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и (b) терапевтически эффективного количества таксана.

[0084] В одном аспекте таксан представляет собой паклитаксел, наб-паклитаксел или доцетаксел, либо их альтернативные препараты. В одном аспекте таксан представляет собой наб-паклитаксел. В одном аспекте таксан представляет собой доцетаксел. В одном аспекте способ, или применение, дополнительно включает терапевтически эффективное количество ингибитора синтеза ДНК. В одном аспекте ингибитор синтеза ДНК представляет собой гемцитабин. В одном аспекте рак поджелудочной железы является МТАР-лишенным или МТАР-нулевым. В одном аспекте пациент неспособен отвечать, перестал отвечать на лечение или испытывает прогрессирование заболевания после одной или более предшествующих линий терапии. В одном аспекте введение соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, представляет собой вторую линию терапии в лечении МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы. В одном аспекте введение соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, представляет собой третью линию терапии в лечении МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы. В одном аспекте пациенту впервые поставлен диагноз. В одном аспекте доза соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, составляет от примерно 20 мг до примерно 800 мг. В одном аспекте доза составляет примерно 20 мг, 25 мг, 50 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 450 мг, 500 мг, 550 мг, 600 мг, 650 мг, 700 мг, 750 мг или 800 мг. В другом аспекте дозу определяют как количество, соответствующее количеству эквивалента свободной формы соединения формулы (I). В одном аспекте дозирование соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, выбрано из дозирования один раз или два раза в сутки. В одном аспекте введение является пероральным. В одном аспекте МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (АППЖ). В одном аспекте МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы является нерезецированным, местно распространенным или метастатическим.

[0085] В одном варианте осуществления способ, или применение, включает лечение пациента, у которого диагностирован МТАР-дефицитный рак легкого или МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы, включающее введение: (a) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):

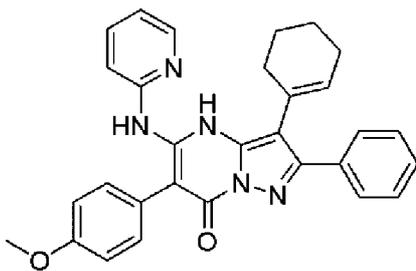


Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и (b) по меньшей мере одного антимитотического средства.

[0086] В одном аспекте антимитотическое средство представляет собой таксан. В одном аспекте таксан представляет собой доцетаксел, паклитаксел или наб-паклитаксел, либо их альтернативные препараты. В одном аспекте антимитотическое средство представляет собой ингибитор киназы Aurora. В одном аспекте ингибитор киназы Aurora является избирательным для киназы Aurora A или киназы Aurora B. В одном аспекте антимитотическое направленное средство представляет собой АВТ-348 или AZD1152. В одном аспекте МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (АППЖ). В одном аспекте МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы является нерезецированным, местно распространенным или метастатическим. В одном аспекте МТАР-дефицитный рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого. В одном аспекте МТАР-дефицитный рак легкого представляет собой плоскоклеточную карциному или аденокарциному.

[0087] В одном варианте осуществления способ, или применение, включает лечение пациента, у которого диагностирован МТАР-дефицитный рак легкого или МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы, включающее введение: (a) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):



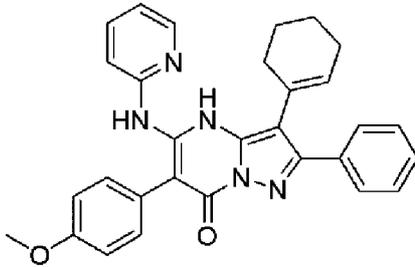
Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и (b) по меньшей мере одного ингибитора синтеза ДНК.

[0088] В одном аспекте ингибитор синтеза ДНК представляет собой гемцитабин. В одном аспекте способ, или применение, дополнительно включает по меньшей мере один таксан. В одном аспекте таксан представляет собой доцетаксел, паклитаксел или наб-паклитаксел, либо их альтернативные препараты. В одном аспекте МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (АППЖ). В одном аспекте МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы является нерезецированным, местно распространенным или метастатическим. В одном аспекте

МТАР-дефицитный рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого. В одном аспекте МТАР-дефицитный рак легкого представляет собой плоскоклеточную карциному или аденокарциному.

[0089] В одном варианте осуществления способ, или применение, включает лечение пациента, у которого диагностирован МТАР-дефицитный рак пищевода, включающее введение: (а) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):

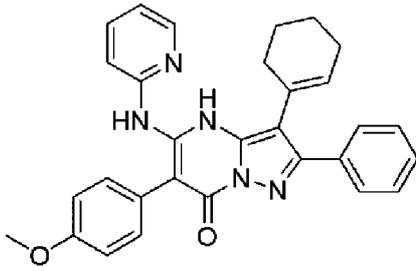


Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и (b) по меньшей мере одного антимиотического средства.

[0090] В одном аспекте антимиотическое средство представляет собой таксан. В одном аспекте таксан представляет собой доцетаксел, паклитаксел или наб-паклитаксел, либо их альтернативные препараты. В другом аспекте таксан представляет собой доцетаксел или паклитаксел. В другом аспекте способ, или применение, дополнительно включает введение одного или более дополнительных терапевтических средств. В одном аспекте пациент неспособен отвечать, перестал отвечать на лечение или испытывает прогрессирование заболевания после одной или более предшествующих линий терапии. В одном аспекте введение соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, представляет собой вторую линию терапии в лечении МТАР-дефицитного рака пищевода. В одном аспекте введение соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, представляет собой третью линию терапии в лечении МТАР-дефицитного рака пищевода. В одном аспекте пациенту впервые поставлен диагноз. В одном аспекте доза соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, составляет от примерно 20 мг до примерно 800 мг. В одном аспекте доза составляет примерно 20 мг, 25 мг, 50 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 450 мг, 500 мг, 550 мг, 600 мг, 650 мг, 700 мг, 750 мг или 800 мг. В одном аспекте дозирование выбрано из дозирования один раз или два раза в сутки. В одном аспекте введение является пероральным. В другом аспекте дозу определяют как количество, соответствующее количеству эквивалента свободной формы соединения формулы (I).

[0091] В следующих вариантах осуществления способ, или применение, включает лечение пациента, у которого диагностирована МТАР-дефицитная мезотелиома, включающее введение: (а) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):



Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и (b) пеметрекседа динатрия. В одном аспекте способ, или применение, дополнительно включает введение одного или более дополнительных терапевтических средств. В другом аспекте дополнительное терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое средство на основе платины. В следующем аспекте химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, триплатина тетранитрат, фенантриплатин, пикоплатин или сатраплатин. В других аспектах химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой карбоплатин или цисплатин. В одном аспекте пациент неспособен отвечать, перестал отвечать на лечение или испытывает прогрессирование заболевания после одной или более предшествующих линий терапии. В одном аспекте введение соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, представляет собой вторую линию терапии в лечении МТАР-дефицитной мезотелиомы. В одном аспекте введение соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, представляет собой третью линию терапии в лечении МТАР-дефицитной мезотелиомы. В одном аспекте пациенту впервые поставлен диагноз. В одном аспекте доза соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, составляет от примерно 20 мг до примерно 800 мг. В одном аспекте доза составляет примерно 20 мг, 25 мг, 50 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 450 мг, 500 мг, 550 мг, 600 мг, 650 мг, 700 мг, 750 мг или 800 мг. В одном аспекте дозирование выбрано из дозирования один раз или два раза в сутки. В одном аспекте введение является пероральным. В другом аспекте дозу определяют как количество, соответствующее количеству эквивалента свободной формы соединения формулы (I).

[0092] Для каждого из вариантов осуществления и аспектов дополнительный аспект включает ситуацию, когда соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и одно или более дополнительных терапевтических средств вводят одновременно. Для каждого из вариантов осуществления и аспектов дополнительный аспект включает ситуацию, когда соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и одно или более дополнительных терапевтических средств вводят последовательно. Для каждого из вариантов осуществления и аспектов способ применения может дополнительно включать радиотерапию.

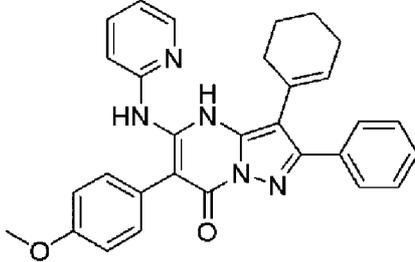
[0093] Один или более аспектов и вариантов осуществления могут быть включены в другой вариант осуществления, хотя и не описанный конкретно. То есть, все аспекты и варианты осуществления, описанные в настоящем документе, могут быть объединены

любым образом или в любом сочетании.

АСПЕКТЫ I

[0094] Аспект 1: Способ лечения МТАР-дефицитного немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) у пациента, который нуждается в этом, включающий введение:

(а) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):



Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и

(b) терапевтически эффективного количества таксана.

[0095] Аспект 2: Способ по аспекту 1, где таксан представляет собой доцетаксел, паклитаксел или наб-паклитаксел, либо их альтернативные препараты.

[0096] Аспект 3: Способ по аспекту 2, где таксан представляет собой доцетаксел.

[0097] Аспект 4: Способ по любому из аспектов 1-3, дополнительно включающий одно или более дополнительных терапевтических средств.

[0098] Аспект 5: Способ по аспекту 4, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое средство на основе платины.

[0099] Аспект 6: Способ по аспекту 5, где химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой цисплатин, карбоплатин, оксаплатин, недаплатин, триплатина тетранитрат, фенантриплатин, пикоплатин или сатраплатин.

[00100] Аспект 7: Способ по аспекту 6, где химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой карбоплатин или цисплатин.

[00101] Аспект 8: Способ по любому из аспектов 1-7, где НМРЛ является МТАР-лишенным или МТАР-нулевым.

[00102] Аспект 9: Способ по любому из аспектов 1-8, где пациент неспособен отвечать, перестал отвечать на лечение или испытывает прогрессирование заболевания после одной или более предшествующих линий терапии.

[00103] Аспект 10: Способ по аспекту 9, где введение представляет собой вторую линию терапии.

[00104] Аспект 11: Способ по аспекту 9, где введение представляет собой третью линию терапии.

[00105] Аспект 12: Способ по любому из аспектов 1-11, где пациенту впервые поставлен диагноз.

[00106] Аспект 13: Способ по любому из аспектов 1-12, где суточная доза соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, составляет от примерно 20 мг до примерно 800 мг.

[00107] Аспект 14: Способ по любому из аспектов 1-13, где ежедневное дозирование выбрано из дозирования один раз или два раза в сутки.

[00108] Аспект 15: Способ по любому из аспектов 1-14, где введение является пероральным.

[00109] Аспект 16: Способ лечения МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы у пациента, который нуждается в этом, включающий введение:

(а) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):



Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и

(b) терапевтически эффективного количества таксана.

[00110] Аспект 17: Способ по аспекту 16, где таксан представляет собой паклитаксел, наб-паклитаксел или доцетаксел, либо их альтернативные препараты.

[00111] Аспект 18: Способ по аспекту 17, где таксан представляет собой наб-паклитаксел.

[00112] Аспект 19: Способ по любому из аспектов 16-18, дополнительно включающий терапевтически эффективное количество ингибитора синтеза ДНК.

[00113] Аспект 20: Способ по аспекту 19, где ингибитор синтеза ДНК представляет собой гемцитабин.

[00114] Аспект 21: Способ по любому из аспектов 16-20, где рак поджелудочной железы является МТАР-лишенным или МТАР-нулевым.

[00115] Аспект 22: Способ по любому из аспектов 16-21, где пациент неспособен отвечать, перестал отвечать на лечение или испытывает прогрессирование заболевания после одной или более предшествующих линий терапии.

[00116] Аспект 23: Способ по аспекту 22, где введение представляет собой вторую линию терапии.

[00117] Аспект 24: Способ по аспекту 23, где введение представляет собой третью линию терапии.

[00118] Аспект 25: Способ по любому из аспектов 16-24, где пациенту впервые поставлен диагноз.

[00119] Аспект 26: Способ по любому из аспектов 16-25, где суточная доза соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, составляет от примерно 20 мг до примерно 800 мг.

[00120] Аспект 27: Способ по любому из аспектов 16-26, где ежедневное дозирование выбрано из дозирования один раз или два раза в сутки.

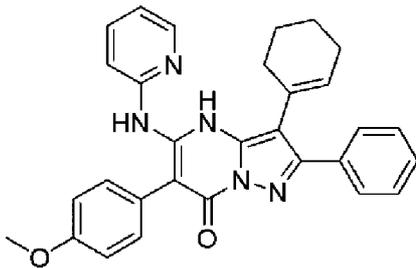
[00121] Аспект 28: Способ по любому из аспектов 16-27, где введение является пероральным.

[00122] Аспект 29: Способ по любому из аспектов 16-28, где рак поджелудочной железы представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (АППЖ).

[00123] Аспект 30: Способ по любому из аспектов 16-29, где рак поджелудочной железы является нерезецированным, местно распространенным или метастатическим.

[00124] Аспект 31: Способ лечения пациента, у которого диагностирован МТАР-дефицитный рак легкого или МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы, включающий введение:

(а) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):



Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и

(b) по меньшей мере одного антимитотического средства.

[00125] Аспект 32: Способ по аспекту 31, где антимитотическое средство представляет собой ингибитор киназы Aurora, или обеих киназ.

[00126] Аспект 33: Способ по аспекту 32, где ингибитор киназы Aurora является избирательным для киназы Aurora A или киназы Aurora B.

[00127] Аспект 34: Способ по аспекту 32 или 33, где антимитотическое направленное средство представляет собой АВТ-348 или AZD1152.

[00128] Аспект 35: Способ по любому из аспектов 31-34, где рак поджелудочной железы представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (АППЖ).

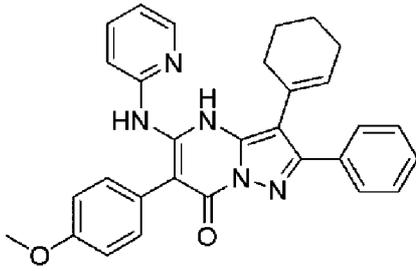
[00129] Аспект 36: Способ по любому из аспектов 31-35, где рак поджелудочной железы является нерезецированным, местно распространенным или метастатическим.

[00130] Аспект 37: Способ по аспекту 31, где рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

[00131] Аспект 38: Способ по аспекту 37, где рак легкого представляет собой плоскоклеточную карциному или аденокарциному.

[00132] Аспект 39: Способ лечения пациента, у которого диагностирован МТАР-дефицитный рак легкого или МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы, включающий введение:

(а) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):



Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и

(b) по меньшей мере одного ингибитора синтеза ДНК.

[00133] Аспект 40: Способ по аспекту 39, где ингибитор синтеза ДНК представляет собой гемцитабин.

[00134] Аспект 41: Способ по аспекту 39 или 40, дополнительно включающий по меньшей мере один таксан.

[00135] Аспект 42: Способ по аспекту 41, где таксан представляет собой доцетаксел, паклитаксел или наб-паклитаксел, либо их альтернативные препараты.

[00136] Аспект 43: Способ по любому из аспектов 39-42, где рак поджелудочной железы представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (АППЖ).

[00137] Аспект 44: Способ по любому из аспектов 39-43, где рак поджелудочной железы является нерезецированным, местно распространенным или метастатическим.

[00138] Аспект 45: Способ по аспекту 39, где рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

[00139] Аспект 46: Способ по аспекту 45, где рак легкого представляет собой плоскоклеточную карциному или аденокарциному.

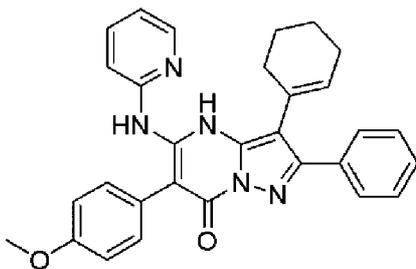
[00140] Аспект 47: Способ по любому из аспектов 1-46, где соединение формулы (I) и одно или более дополнительных терапевтических средств вводят одновременно.

[00141] Аспект 48: Способ по любому из аспектов 1-46, где соединение формулы (I) и одно или более дополнительных терапевтических средств вводят последовательно.

[00142] Аспект 49: Способ по любому из аспектов 1-48, дополнительно включающий радиотерапию.

[00143] Аспект 50: Способ лечения МТАР-дефицитного рака пищевода у пациента, который нуждается в этом, включающий введение:

(a) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):



Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и

(b) терапевтически эффективного количества таксана.

[00144] Аспект 51: Способ по аспекту 50, где таксан представляет собой паклитаксел, наб-паклитаксел или доцетаксел, либо их альтернативные препараты.

[00145] Аспект 52: Способ по аспекту 51, где таксан представляет собой доцетаксел.

[00146] Аспект 53: Способ по аспекту 50, где рак пищевода является МТАР-лишенным или МТАР-нулевым.

[00147] Аспект 54: Способ по аспекту 50, где пациент неспособен отвечать, перестал отвечать на лечение или испытывает прогрессирование заболевания после одной или более предшествующих линий терапии.

[00148] Аспект 55: Способ по аспекту 54, где введение представляет собой вторую линию терапии.

[00149] Аспект 56: Способ по аспекту 54, где введение представляет собой третью линию терапии.

[00150] Аспект 57: Способ по аспекту 50, где пациенту впервые поставлен диагноз.

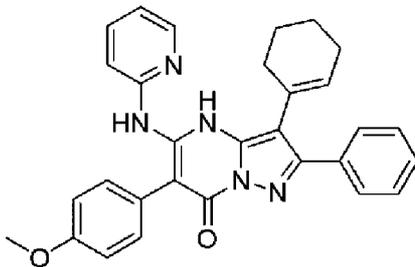
[00151] Аспект 58: Способ по аспекту 50, где ежедневное дозирование выбрано из дозирования один раз или два раза в сутки.

[00152] Аспект 59: Способ по аспекту 50, где введение является пероральным.

АСПЕКТЫ II

[00153] Аспект 1. Способ лечения МТАР-дефицитного немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) у пациента, который нуждается в этом, включающий введение:

(a) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):

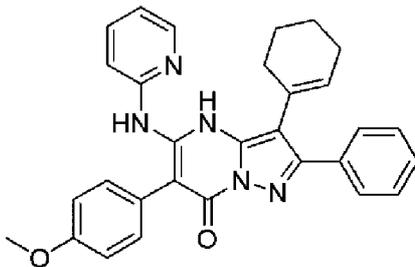


Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и

(b) терапевтически эффективного количества таксана.

[00154] Аспект 2. Соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, для применения в лечении МТАР-дефицитного немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) в сочетании с терапевтически эффективным количеством таксана:



Формула (I).

[00155] Аспект 3. Способ по аспекту 1 или соединение по аспекту 2, где таксан представляет собой доцетаксел, паклитаксел или наб-паклитаксел.

[00156] Аспект 4. Способ или соединение по аспекту 2, где таксан представляет собой доцетаксел.

[00157] Аспект 5. Способ по аспекту 1, 3 или 4, дополнительно включающий введение одного или более дополнительных терапевтических средств.

[00158] Аспект 6. Соединение по любому из аспектов 2-4, где сочетание дополнительно включает одно или более дополнительных терапевтических средств.

[00159] Аспект 7. Способ по аспекту 5 или соединение по аспекту 6, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое средство на основе платины.

[00160] Аспект 8. Способ или соединение по аспекту 7, где химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, триплатина тетранитрат, фенантриплатин, пикоплатин или сатраплатин.

[00161] Аспект 9. Способ или соединение по аспекту 7 или 8, где химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой карбоплатин или цисплатин.

[00162] Аспект 10. Способ по любому из аспектов 1, 3-5 или 7-9, где пациент неспособен отвечать, перестал отвечать на лечение или испытывает прогрессирование заболевания после одной или более предшествующих линий терапии для лечения МТАР-дефицитного НМРЛ.

[00163] Аспект 11. Способ или соединение по аспекту 10, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой вторую линию терапии для лечения МТАР-дефицитного НМРЛ.

[00164] Аспект 12. Способ или соединение по аспекту 10, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой третью линию терапии для лечения МТАР-дефицитного НМРЛ.

[00165] Аспект 13. Способ или соединение по любому из аспектов 1-12, где МТАР-дефицитный НМРЛ диагностирован впервые.

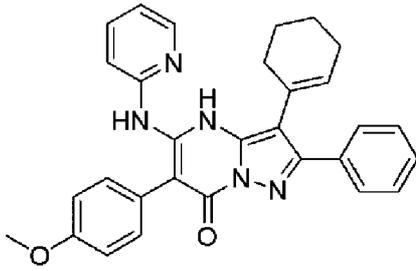
[00166] Аспект 14. Способ или соединение по любому из аспектов 1-13, где доза соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, составляет от примерно 20 мг до примерно 800 мг.

[00167] Аспект 15. Способ или соединение по любому из аспектов 1-14, где дозирование соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, представляет собой дозирование один раз или два раза в сутки.

[00168] Аспект 16. Способ или соединение по любому из аспектов 1-15, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, вводят перорально или формулируют для перорального введения.

[00169] Аспект 17. Способ лечения МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы у пациента, который нуждается в этом, включающий введение:

(а) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):

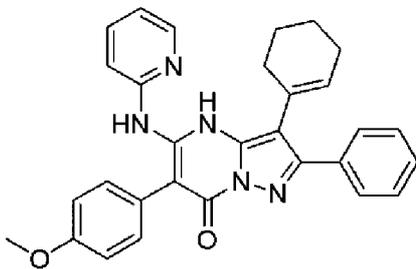


Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и

(b) терапевтически эффективного количества таксана.

[00170] Аспект 18. Соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, для применения в лечении МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы в сочетании с терапевтически эффективным количеством таксана:



Формула (I).

[00171] Аспект 19. Способ по аспекту 17 или соединение по аспекту 18, где таксан представляет собой паклитаксел, наб-паклитаксел или доцетаксел.

[00172] Аспект 20. Способ или соединение по аспекту 19, где таксан представляет собой наб-паклитаксел.

[00173] Аспект 21. Способ по любому из аспектов 17, 19 или 20, дополнительно включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора синтеза ДНК.

[00174] Аспект 22. Соединение по любому из аспектов 18-20, где сочетание дополнительно включает терапевтически эффективное количество ингибитора синтеза ДНК.

[00175] Аспект 23. Способ или соединение по аспекту 21 или 22, где ингибитор синтеза ДНК представляет собой гемцитабин.

[00176] Аспект 24. Способ по любому из аспектов 17, 19-21 или 23, где пациент неспособен отвечать, перестал отвечать на лечение или испытывает прогрессирование заболевания после одной или более предшествующих линий терапии для лечения МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы.

[00177] Аспект 25. Способ или соединение по аспекту 24, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой вторую линию терапии для лечения МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы.

[00178] Аспект 26. Способ или соединение по аспекту 25, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой третью линию терапии для лечения МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы.

[00179] Аспект 27. Способ или соединение по любому из аспектов 17-26, где МТАР-

дефицитный рак поджелудочной железы диагностирован впервые.

[00180] Аспект 28. Способ или соединение по любому из аспектов 17-27, где доза соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, составляет от примерно 20 мг до примерно 800 мг.

[00181] Аспект 29. Способ или соединение по любому из аспектов 17-28, где дозирование соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, выбрано из дозирования один раз или два раза в сутки.

[00182] Аспект 30. Способ или соединение по любому из аспектов 17-29, где введение соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, является пероральным, или соединение сформулировано для перорального введения.

[00183] Аспект 31. Способ или соединение по любому из аспектов 17-27, где рак поджелудочной железы представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (АППЖ).

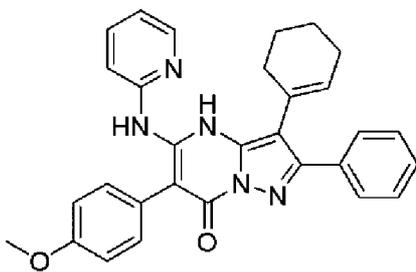
[00184] Аспект 32. Способ или соединение по любому из аспектов 17-31, где рак поджелудочной железы является нерезецированным, местно распространенным или метастатическим.

[00185] Аспект 33. Способ по любому из аспектов 1, 3-5, 7-17, 19-21 или 23-32, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и таксан вводят одновременно.

[00186] Аспект 34. Способ по любому из аспектов 1, 3-5, 7-17, 19-21 или 23-32, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и таксан вводят последовательно.

[00187] Аспект 35. Способ лечения пациента, у которого диагностирован рак, который представляет собой МТАР-дефицитный рак легкого, МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы или МТАР-дефицитный рак пищевода, включающий введение:

(a) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):

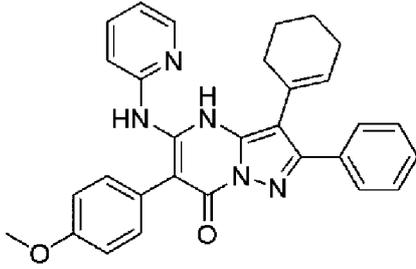


Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и

(b) по меньшей мере одного антимиотического средства.

[00188] Аспект 36. Соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, для применения в лечении рака, который представляет собой МТАР-дефицитный рак легкого, МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы или МТАР-дефицитный рак пищевода, в сочетании с по меньшей мере одним антимиотическим средством:



Формула (I).

[00189] Аспект 37. Способ по аспекту 35 или соединение по аспекту 36, где антимитотическое средство представляет собой ингибитор киназы Aurora.

[00190] Аспект 38. Способ или соединение по аспекту 37, где ингибитор киназы Aurora является избирательным для киназы Aurora A или киназы Aurora B.

[00191] Аспект 39. Способ или соединение по аспекту 37 или 38, где антимитотическое направленное средство представляет собой АВТ-348 или AZD1152.

[00192] Аспект 40. Способ или соединение по любому из аспектов 35-39, где рак представляет собой МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы.

[00193] Аспект 41. Способ или соединение по аспекту 40, где МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (АППЖ).

[00194] Аспект 42. Способ или соединение по аспекту 40 или 41, где рак поджелудочной железы является нерезецированным, местно распространенным или метастатическим.

[00195] Аспект 43. Способ или соединение по любому из аспектов 35-39, где рак представляет собой МТАР-дефицитный рак легкого.

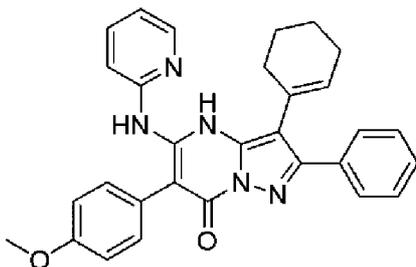
[00196] Аспект 44. Способ или соединение по аспекту 43, где МТАР-дефицитный рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

[00197] Аспект 45. Способ или соединение по аспекту 43 или 44, где МТАР-дефицитный рак легкого представляет собой плоскоклеточную карциному или аденокарциному.

[00198] Аспект 46. Способ или соединение по любому из аспектов 35-39, где рак представляет собой МТАР-дефицитный рак пищевода.

[00199] Аспект 47. Способ лечения пациента, у которого диагностирован рак, который представляет собой МТАР-дефицитный рак легкого, МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы или МТАР-дефицитный рак пищевода, включающий введение:

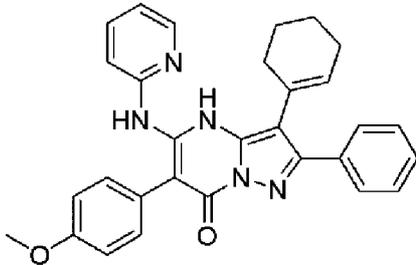
(а) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):



Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и
(b) по меньшей мере одного ингибитора синтеза ДНК.

[00200] Аспект 48. Соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, для применения в лечении рака, который представляет собой МТАР-дефицитный рак легкого, МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы или МТАР-дефицитный рак пищевода, в сочетании с по меньшей мере одним ингибитором синтеза ДНК:



Формула (I).

[00201] Аспект 49. Способ по аспекту 47 или соединение по аспекту 48, где ингибитор синтеза ДНК представляет собой гемцитабин.

[00202] Аспект 50. Способ по аспекту 47 или 49, дополнительно включающий введение по меньшей мере одного таксана.

[00203] Аспект 51. Соединение по аспекту 48, где сочетание дополнительно включает по меньшей мере один таксан.

[00204] Аспект 52. Способ или соединение по аспекту 50 или 51, где таксан представляет собой доцетаксел, паклитаксел или наб-паклитаксел.

[00205] Аспект 53. Способ или соединение по любому из аспектов 47-52, где рак представляет собой МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы.

[00206] Аспект 54. Способ или соединение по аспекту 53, где МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (АППЖ).

[00207] Аспект 55. Способ или соединение по аспекту 53 или 54, где рак поджелудочной железы является нерезецированным, местно распространенным или метастатическим.

[00208] Аспект 56. Способ или соединение по любому из аспектов 47-52, где рак представляет собой МТАР-дефицитный рак легкого.

[00209] Аспект 57. Способ или соединение по аспекту 56, где МТАР-дефицитный рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

[00210] Аспект 58. Способ или соединение по аспекту 56 или 57, где МТАР-дефицитный рак легкого представляет собой плоскоклеточную карциному или аденокарциному.

[00211] Аспект 59. Способ или соединение по любому из аспектов 47-52, где рак представляет собой МТАР-дефицитный рак пищевода.

[00212] Аспект 60. Способ по любому из аспектов 1, 3-5, 7-17, 19-21, 23-32, 35, 37-50 и 52, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и

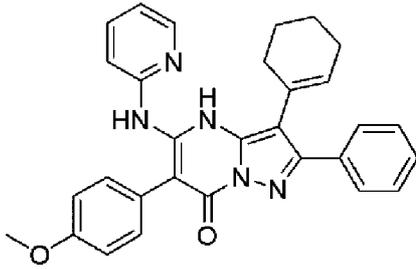
ингибитор синтеза ДНК вводят одновременно.

[00213] Аспект 61. Способ по любому из аспектов 1, 3-5, 7-17, 19-21, 23-32, 35, 37-50 и 52-59, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и ингибитор синтеза ДНК вводят последовательно.

[00214] Аспект 62. Способ или соединение по любому из аспектов 1-61, с дополнительным включением радиотерапии.

[00215] Аспект 63. Способ лечения МТАР-дефицитного рака пищевода у пациента, который нуждается в этом, включающий введение:

(а) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):

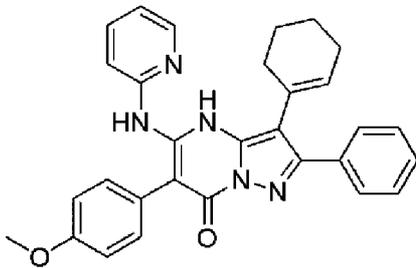


Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и

(b) терапевтически эффективного количества таксана.

[00216] Аспект 64. Соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, для применения в лечении МТАР-дефицитного рака пищевода в сочетании с терапевтически эффективным количеством таксана:



Формула (I).

[00217] Аспект 65. Способ по аспекту 63 или соединение по аспекту 64, где таксан представляет собой паклитаксел, наб-паклитаксел или доцетаксел.

[00218] Аспект 66. Способ или соединение по аспекту 65, где таксан представляет собой доцетаксел.

[00219] Аспект 67. Способ или соединение по аспекту 65, где таксан представляет собой паклитаксел.

[00220] Аспект 68. Способ по аспекту 63, дополнительно включающий введение одного или более дополнительных терапевтических средств.

[00221] Аспект 69. Соединение по аспекту 64, где сочетание дополнительно включает одно или более дополнительных терапевтических средств.

[00222] Аспект 70. Способ по аспекту 68 или соединение по аспекту 69, где одно или более дополнительных терапевтических средств представляют собой химиотерапевтическое средство на основе платины.

[00223] Аспект 71. Способ или соединение по аспекту 70, где химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, надаплатин, триплатина тетранитрат, фенантриплатин, пикоплатин или сатраплатин.

[00224] Аспект 72. Способ или соединение по аспекту 70 или 71, где химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой цисплатин, карбоплатин или оксалиплатин.

[00225] Аспект 73. Способ по аспекту 70, дополнительно включающий введение антиметаболита.

[00226] Аспект 74. Соединение по аспекту 70, где сочетание дополнительно включает антиметаболит.

[00227] Аспект 75. Способ по аспекту 73 или соединение по аспекту 74, где антиметаболит представляет собой 5-фторурацил или капецитабин.

[00228] Аспект 76. Способ по аспекту 63, где пациент неспособен отвечать, перестал отвечать на лечение или испытывает прогрессирование заболевания после одной или более предшествующих линий терапии для лечения МТАР-дефицитного рака пищевода.

[00229] Аспект 77. Способ по аспекту 63 или соединение по аспекту 64, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой вторую линию терапии для лечения МТАР-дефицитного рака пищевода.

[00230] Аспект 78. Способ по аспекту 63 или соединение по аспекту 64, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой третью линию терапии для лечения МТАР-дефицитного рака пищевода.

[00231] Аспект 79. Способ по аспекту 63 или соединение по аспекту 64, где МТАР-дефицитный рак пищевода диагностирован впервые.

[00232] Аспект 80. Способ по аспекту 63 или соединение по аспекту 64, где дозирование соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, выбрано из дозирования один раз или два раза в сутки.

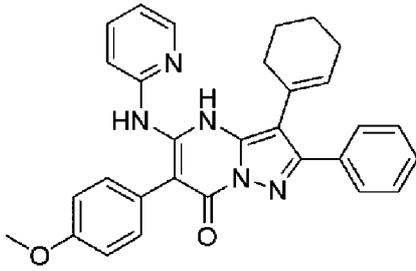
[00233] Аспект 81. Способ по аспекту 63 или соединение по аспекту 64, где введение соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, является пероральным, или соединение сформулировано для перорального введения.

[00234] Аспект 82. Способ по любому из аспектов 63, 65-68 или 70-81, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и таксан вводят одновременно.

[00235] Аспект 83. Способ по любому из аспектов 63, 65-68 или 70-81, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и таксан вводят последовательно.

[00236] Аспект 84. Способ лечения пациента, у которого диагностирован рак, который представляет собой МТАР-дефицитный рак легкого, МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы или МТАР-дефицитный рак пищевода, включающий введение:

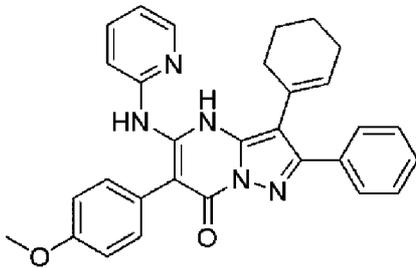
(а) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):



Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и
(b) пеметрекседа динатрия.

[00237] Аспект 85. Соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, для применения в лечении рака, который представляет собой МТАР-дефицитный рак легкого, МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы или МТАР-дефицитный рак пищевода, в сочетании с пеметрекседом динатрия:



Формула (I).

[00238] Аспект 86. Способ по аспекту 84 или соединение по аспекту 85, где рак представляет собой МТАР-дефицитный рак легкого.

[00239] Аспект 87. Способ или соединение по аспекту 86, где МТАР-дефицитный рак легкого представляет собой неплоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого.

[00240] Аспект 88. Способ по любому из аспектов 84, 86 или 87, дополнительно включающий введение одного или более дополнительных терапевтических средств.

[00241] Аспект 89. Соединение по любому из аспектов 85-86, где сочетание дополнительно включает одно или более дополнительных терапевтических средств.

[00242] Аспект 90. Способ по аспекту 88 или соединение по аспекту 89, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое средство на основе платины.

[00243] Аспект 91. Способ или соединение по аспекту 90, где химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, триплатина тетранитрат, фенантриплатин, пикоплатин или сатраплатин.

[00244] Аспект 92. Способ или соединение по аспекту 90 или 91, где химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой карбоплатин или цисплатин.

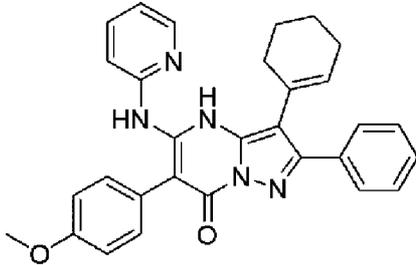
[00245] Аспект 93. Способ по любому из аспектов 88 или 90-92, дополнительно включающий введение пембролизумаба.

[00246] Аспект 94. Соединение по любому из аспектов 89-92, с дополнительным включением пембролизумаба.

[00247] Аспект 95. Способ или соединение по любому из аспектов 84-94, где рак является нерезецированным, местно распространенным или метастатическим.

[00248] Аспект 96. Способ лечения пациента, у которого диагностирована МТАР-дефицитная мезотелиома, включающий введение:

(а) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):

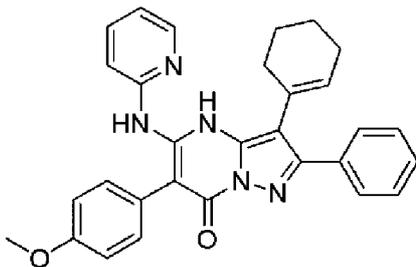


Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и

(b) пеметрекседа динатрия.

[00249] Аспект 97. Соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, для применения в лечении МТАР-дефицитной мезотелиомы в сочетании с пеметрекседом динатрия:



Формула (I).

[00250] Аспект 98. Способ по аспекту 96, дополнительно включающий введение одного или более дополнительных терапевтических средств.

[00251] Аспект 99. Соединение по аспекту 97, где сочетание дополнительно включает одно или более дополнительных терапевтических средств.

[00252] Аспект 100. Способ по аспекту 98 или соединение по аспекту 99, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое средство на основе платины.

[00253] Аспект 101. Способ или соединение по аспекту 100, где химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, триплатина тетранитрат, фенантриплатин, пикоплатин или сатраплатин.

[00254] Аспект 102. Способ или соединение по аспекту 100 или 101, где химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой карбоплатин или цисплатин.

ПРИМЕРЫ

[00255] Понимание настоящего изобретения будет более полным при изучении следующих примеров. Однако примеры не должны быть восприняты как ограничивающие

объем настоящего изобретения.

[00256] Соединение формулы (I), которое, как отмечено выше, также можно называть Соединением 1, может быть синтезировано, как описано в международной патентной заявке № PCT/US2017/049439, которая опубликована как WO 2018/045071 и включена в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

Пример 1: Молекулярный механизм

[00257] Эксперименты по синхронизации клеточного цикла проводили с использованием двойной тимидиновой блокады. Эти эксперименты проводили с НСТ116 МТАР^{-/-} (Horizon Discovery). Статус МТАР^{-/-} в данной линии клеток был сконструирован искусственно и не был получен из образца от пациента. Двойную тимидиновую блокаду проводили для синхронизации клеток в ранней фазе S после предварительной обработки соединением формулы (I) или контролем ДМСО в течение 72 часов.

[00258] После последующего снятия двойной тимидиновой блокады репликации прогрессирование клеточного цикла контролировали методом проточной цитометрии после обработки соединением формулы (I) или контролем ДМСО. Обработка соединением формулы (I) клеток НСТ116 МТАР^{-/-} приводила к растянутому прогрессированию из фазы S в фазу G2/M, о чем свидетельствовало более медленное накопление клеток с содержанием 4N. На Фигуре 1 показано, что соединение формулы (I) ингибирует прогрессирование клеточного цикла избирательно в клетках НСТ116 МТАР^{-/-}.

[00259] Это растянутое прогрессирование в течение клеточного цикла дополнительно коррелировало с пониженными уровнями белка критического регулятора митоза киназы Aurora B, а также с замедленным появлением маркера митоза, фосфорилированного гистона H3 (phS10-H3) после снятия двойной тимидиновой блокады. На Фигуре 2 представлены результаты вестерн-блот анализа уровней Aurora B и фосфо-Ser10-H3 во время прогрессирования клеточного цикла.

[00260] Наблюдаемое снижение скорости прогрессирования в митоз в клетках НСТ116 МТАР^{-/-}, обработанных Соединением 1, свидетельствует о том, что эти клетки могли бы испытывать репликационный стресс вследствие накопления поврежденной ДНК. Для оценки уровней повреждения ДНК проводили анализ уровней фосфорилированного H2AX (γ H2AX) методом иммунофлуоресценции. Результаты данных экспериментов продемонстрировали более чем 3-кратное увеличение числа γ H2AX-положительных клеток после обработки Соединением 1 в сравнении с контролем ДМСО. На Фигурах 3А и 3В представлены результаты иммунофлуоресцентного анализа γ H2AX, которые демонстрируют повышенный уровень повреждения ДНК в клетках НСТ116 МТАР^{-/-} после обработки Соединением 1.

[00261] Была проведена оценка того, обладают ли клетки НСТ116 МТАР^{-/-} способностью к нормальному клеточному делению в присутствии Соединения 1.

[00262] Было проанализировано число клеток с аберрациями митотической фигуры и проведена оценка частоты образования микроядер с использованием окрашивания DAPI. Результаты анализа с окрашиванием DAPI показали увеличение числа микроядер при

обработке Соединением 1. Как показано на Фигурах 4А и 4В, иммунофлуоресцентный анализ с окрашиванием DAPI демонстрирует, что обработка Соединением 1 приводит к увеличению количества микроядер в клетках НСТ116 *MTAP*^{-/-}.

[00263] Кроме того, анализ с окрашиванием DAPI выявил повышенное количество клеток с другими митотическими дефектами, которые связаны с обработкой Соединением 1, среди клеток НСТ116 *MTAP*^{-/-}. Как показано на Фигуре 5А, увеличено количество клеток с асимметрично разделенным ядром и клеток, содержащих два или несколько ядер, после обработки Соединением 1. Более того, как показано на Фигуре 5В, также наблюдалось увеличение митотических клеток с хромосомными аберрациями, отмеченными уН2АХ.

Пример 2: Определение показателя синергии

[00264] Проводили анализы с ингибированием клеточного роста на панели 29 МТАР-нулевых линий клеток, приведенных в Таблице 1, включая МТАР-нулевые клетки НСТ116, с использованием платформы для высокопроизводительного скрининга Horizon Discovery с целью оценки полезных взаимодействий между Соединением 1 и соответствующими современному стандарту лечения лекарственными средствами (пеметрексед, паклитаксел и гемцитабин гидрохлорид). Клетки обрабатывали 4 комбинациями, состоящими из Соединения 1 в сочетании с пятью (5) средствами, в настоящем документе называемыми «усилителями», а именно пеметрекседом, паклитакселом, гемцитабином, АВТ-348 и AZD1152-HQPA.

[00265] Как показано на Фигуре 6, показатели синергии Лоу представлены в виде точечной диаграммы и ранжированы по среднему показателю синергии для панели клеточных линий, представленному изображенной на ней линией.

Таблица 1: Паттерн линий клеток				
Линия клеток	Ткань	Среда	Наблюдаемое время удвоения (ч)	Время обработки в анализе (ч)
НСТ-116_МТАР (-/-)	Ободочная и прямая кишка	Среда Мак-коя 5А+10% ЭБС	27	96
ТЕ-10	Пищевод	RPMI+10% ЭБС	39	96
ТЕ-14	Пищевод	RPMI+10% ЭБС	37	96
ТЕ-6	Пищевод	RPMI+10% ЭБС	36	96
A549	Легкое	Среда Хэма F12K+10% ЭБС	31	96
НСС1171	Легкое	RPMI+10% ЭБС+25 мМ NERES+25 мМ бикарбонат натрия	45	96

HCC-15	Легкое	RPMI+10% ЭБС	35	96
HLC-1	Легкое	Среда Хэма F12+10% ЭБС	44	96
LU-99	Легкое	RPMI+10% ЭБС	29	96
NCI-H1437	Легкое	RPMI+10% ЭБС	37	96
NCI-H1650	Легкое	RPMI+10% ЭБС	39	96
NCI-H1755	Легкое	RPMI+10% ЭБС	27	96
NCI-H2023	Легкое	HITES+5% ЭБС	33	96
NCI-H2126	Легкое	HITES	51	96
NCI-H2170	Легкое	RPMI+10% ЭБС	43	96
NCI-H2228	Легкое	RPMI+10% ЭБС	67	96
NCI-H647	Легкое	RPMI+10% ЭБС	34	96
NCI-H838	Легкое	RPMI+10% ЭБС	31	96
SK-LU-1	Легкое	EMEM+10% ЭБС	43	96
SW1573	Легкое	RPMI+10% ЭБС	34	96
SW900	Легкое	RPMI+10% ЭБС	49	96
BxPC-3	Поджелудочная железа	RPMI+10% ЭБС	36	96
DAN-G	Поджелудочная железа	RPMI+10% ЭБС	43	96
HuP-T3	Поджелудочная железа	EMEM+10% ЭБС+1% NEAA+1 мМ пируват натрия	38	96
KP-4	Поджелудочная железа	RPMI+10% ЭБС	28	96
MIA PaCa-2	Поджелудочная железа	DMEM+10% ЭБС+2,5% лошадиная сыворотка	29	96
PK-45H	Поджелудочная железа	RPMI+10% ЭБС	42	96
SNU-410	Поджелудочная железа	RPMI+10% ЭБС+25 мМ HEPES+25 мМ бикарбонат натрия	60	96
SU.86.86	Поджелудочная железа	RPMI+10% ЭБС	34	96

В следующих далее таблицах приведены результаты определения показателей

синергии Лоу, расчет которых описан выше в настоящем документе, произведенного в Примере 2.

Таблица 2: Ответ на сочетание - Соединение 1 x АВТ-384					
Линия клеток	Ткань	Усилитель	Показатель синергии	Объем Лоу	N
TE-10	Пищевод	АВТ-348	13,7	10,0	3
TE-14	Пищевод	АВТ-348	9,0	9,1	4
TE-6	Пищевод	АВТ-348	4,8	6,7	3
A549	Легкое	АВТ-348	5,5	3,3	3
HCC1171	Легкое	АВТ-348	7,3	7,4	4
HCC-15	Легкое	АВТ-348	9,0	7,3	3
HLC-1	Легкое	АВТ-348	5,5	3,3	2
LU-99	Легкое	АВТ-348	6,6	6,0	6
NCI-H1437	Легкое	АВТ-348	7,6	6,8	3
NCI-H1650	Легкое	АВТ-348	5,8	3,4	4
NCI-H1755	Легкое	АВТ-348	6,0	-7,4	4
NCI-H2023	Легкое	АВТ-348	13,7	11,3	4
NCI-H2126	Легкое	АВТ-348	3,7	-0,9	4
NCI-H2170	Легкое	АВТ-348	7,7	5,6	5
NCI-H2228	Легкое	АВТ-348	5,0	2,7	3
NCI-H647	Легкое	АВТ-348	2,7	0,9	5
NCI-H838	Легкое	АВТ-348	9,9	9,4	3
SK-LU-1	Легкое	АВТ-348	2,6	1,7	3
SW1573	Легкое	АВТ-348	4,8	5,1	3
SW900	Легкое	АВТ-348	6,1	-0,8	4
ВхРС-3	Поджелудоч ная железа	АВТ-348	7,8	7,4	7
DAN-G	Поджелудоч ная железа	АВТ-348	6,2	5,2	2
НuP-Т3	Поджелудоч ная железа	АВТ-348	7,5	6,7	9
КР-4	Поджелудоч ная железа	АВТ-348	7,1	5,8	6
МIA PaCa-2	Поджелудоч	АВТ-348	6,3	5,7	2

	ная железа				
PK-45H	Поджелудочная железа	АВТ-348	3,3	3,3	5
SNU-410	Поджелудочная железа	АВТ-348	18,1	16,4	4
SU.86.86	Поджелудочная железа	АВТ-348	4,1	3,2	4

Таблица 3: Ответ на сочетание - Соединение 1 x гемцитабина гидрохлорид

Линия клеток	Ткань	Усилитель	Показатель синергии	Объем Лоу	N
TE-10	Пищевод	Гемцитабина гидрохлорид	22,3	13,0	3
TE-14	Пищевод	Гемцитабина гидрохлорид	4,4	2,0	4
TE-6	Пищевод	Гемцитабина гидрохлорид	1,9	2,2	6
A549	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	3,6	2,5	5
HCC117 1	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	2,9	3,0	7
HCC-15	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	5,3	2,1	3
HLC-1	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	3,9	-0,2	3
LU-99	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	1,1	-2,7	3
NCI- H1437	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	7,7	4,6	2
NCI- H1650	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	8,5	4,9	3
NCI- H1755	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	2,4	-0,8	6
NCI- H2023	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	11,0	8,0	4
NCI- H2126	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	1,8	-2,8	4
NCI- H2170	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	9,3	3,0	7
NCI- H2228	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	5,1	2,6	5
NCI-	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	3,0	2,6	5

H647					
NCI-H838	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	3,1	2,3	6
SK-LU-1	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	8,5	4,5	4
SW1573	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	10,6	7,3	5
SW900	Легкое	Гемцитабина гидрохлорид	6,4	2,5	5
BxPC-3	Поджелудочная железа	Гемцитабина гидрохлорид	14,6	11,5	3
DAN-G	Поджелудочная железа	Гемцитабина гидрохлорид	1,3	-3,1	3
HuP-T3	Поджелудочная железа	Гемцитабина гидрохлорид	7,1	5,2	8
KP-4	Поджелудочная железа	Гемцитабина гидрохлорид	2,5	0,2	2
MIA PaCa-2	Поджелудочная железа	Гемцитабина гидрохлорид	2,6	-1,9	5
PK-45H	Поджелудочная железа	Гемцитабина гидрохлорид	1,1	-0,2	3
SNU-410	Поджелудочная железа	Гемцитабина гидрохлорид	9,5	5,3	4
SU.86.86	Поджелудочная железа	Гемцитабина гидрохлорид	1,9	-0,1	2

Таблица 4: Ответ на сочетание - Соединение 1 x паклитаксел

Линия клеток	Ткань	Усилитель	Показатель синергии	Объем Лоу	N
TE-10	Пищевод	Паклитаксел	4,4	2,1	3
TE-14	Пищевод	Паклитаксел	12,9	8,9	4
TE-6	Пищевод	Паклитаксел	2,0	1,8	3
A549	Легкое	Паклитаксел	2,7	4,4	4
HCC1171	Легкое	Паклитаксел	2,8	1,8	4
HCC-15	Легкое	Паклитаксел	6,8	4,4	3
HLC-1	Легкое	Паклитаксел	12,4	9,2	4
LU-99	Легкое	Паклитаксел	1,6	1,9	3
NCI-	Легкое	Паклитаксел	4,4	1,4	3

H1437					
NCI-H1650	Легкое	Паклитаксел	2,7	2,4	4
NCI-H1755	Легкое	Паклитаксел	4,6	2,4	3
NCI-H2023	Легкое	Паклитаксел	7,0	6,7	4
NCI-H2126	Легкое	Паклитаксел	1,2	-4,9	4
NCI-H2170	Легкое	Паклитаксел	4,9	2,0	9
NCI-H2228	Легкое	Паклитаксел	7,6	3,8	3
NCI-H647	Легкое	Паклитаксел	12,2	8,8	6
NCI-H838	Легкое	Паклитаксел	2,4	-1,0	3
SK-LU-1	Легкое	Паклитаксел	3,9	3,5	3
SW1573	Легкое	Паклитаксел	3,0	3,7	3
SW900	Легкое	Паклитаксел	1,8	1,1	5
ВхРС-3	Поджелудочная железа	Паклитаксел	3,3	2,5	8
DAN-G	Поджелудочная железа	Паклитаксел	5,6	5,3	6
HuP-T3	Поджелудочная железа	Паклитаксел	12,3	8,5	7
KP-4	Поджелудочная железа	Паклитаксел	8,5	5,6	5
MIA PaCa-2	Поджелудочная железа	Паклитаксел	4,1	3,6	4
PK-45H	Поджелудочная железа	Паклитаксел	1,9	-1,4	3
SNU-410	Поджелудочная железа	Паклитаксел	11,0	7,8	4
SU.86.86	Поджелудочная железа	Паклитаксел	4,6	4,6	3

Таблица 5: Ответ на сочетание - Соединение 1 x AXD1152-HQPA					
Линия клеток	Ткань	Усилитель	Показатель синергии	Объем Лоу	N
TE-10	Пищевод	AZD1152-HQPA	8,7	7,7	3
TE-14	Пищевод	AZD1152-HQPA	5,7	8,8	4
TE-6	Пищевод	AZD1152-HQPA	3,7	5,8	4
A549	Легкое	AZD1152-HQPA	3,1	4,3	4
HCC1171	Легкое	AZD1152-HQPA	3,5	4,8	4
HCC-15	Легкое	AZD1152-HQPA	12,0	10,8	3
HLC-1	Легкое	AZD1152-HQPA	5,3	5,4	3
LU-99	Легкое	AZD1152-HQPA	4,2	4,5	3
NCI-H1437	Легкое	AZD1152-HQPA	4,5	5,4	3
NCI-H1650	Легкое	AZD1152-HQPA	3,7	4,1	4
NCI-H1755	Легкое	AZD1152-HQPA	8,0	0,8	6
NCI-H2023	Легкое	AZD1152-HQPA	6,7	8,1	4
NCI-H2126	Легкое	AZD1152-HQPA	6,3	5,3	4
NCI-H2170	Легкое	AZD1152-HQPA	12,7	8,9	5
NCI-H2228	Легкое	AZD1152-HQPA	3,5	5,2	4

NCI-H647	Легкое	AZD1152- HQA	6,1	6,0	4
NCI-H838	Легкое	AZD1152- HQA	4,5	5,6	3
SK-LU-1	Легкое	AZD1152- HQA	6,4	7,5	3
SW1573	Легкое	AZD1152- HQA	3,0	4,2	5
SW900	Легкое	AZD1152- HQA	2,1	0,6	5
ВхPC-3	Поджелудочная железа	AZD1152- HQA	6,3	8,5	7
DAN-G	Поджелудочная железа	AZD1152- HQA	4,3	4,9	4
HuP-T3	Поджелудочная железа	AZD1152- HQA	5,9	5,9	8
KP-4	Поджелудочная железа	AZD1152- HQA	7,6	6,4	5
MIA PaCa-2	Поджелудочная железа	AZD1152- HQA	4,7	3,6	3
PK-45H	Поджелудочная железа	AZD1152- HQA	2,7	4,4	3
SNU-410	Поджелудочная железа	AZD1152- HQA	12,8	14,0	4
SU.86.86	Поджелудочная железа	AZD1152- HQA	1,8	3,1	6

Таблица 6: Ответ на сочетание - Соединение 1 x пеметрексед

Линия клеток	Ткань	Усилитель	Показатель синергии	Объем Лоу	N
TE-10	Пищевод	Пеметрексед	4,5	6,5	3
TE-14	Пищевод	Пеметрексед	10,7	5,4	4
TE-6	Пищевод	Пеметрексед	6,6	10,7	5
A549	Легкое	Пеметрексед	1,7	2,1	4

HCC1171	Легкое	Пеметрексед	1,2	0,9	4
HCC-15	Легкое	Пеметрексед	6,7	7,7	3
HLC-1	Легкое	Пеметрексед	2,9	4,0	3
LU-99	Легкое	Пеметрексед	1,8	1,2	3
NCI- H1437	Легкое	Пеметрексед	5,0	4,5	3
NCI- H1650	Легкое	Пеметрексед	2,8	5,8	9
NCI- H1755	Легкое	Пеметрексед	9,0	8,8	3
NCI- H2023	Легкое	Пеметрексед	4,6	6,1	4
NCI- H2126	Легкое	Пеметрексед	1,6	2,0	4
NCI- H2170	Легкое	Пеметрексед	2,2	0,4	6
NCI- H2228	Легкое	Пеметрексед	4,9	4,3	3
NCI-H647	Легкое	Пеметрексед	2,8	2,7	6
NCI-H838	Легкое	Пеметрексед	13,5	12,5	3
SK-LU-1	Легкое	Пеметрексед	5,9	6,6	7
SW1573	Легкое	Пеметрексед	1,3	1,9	4
SW900	Легкое	Пеметрексед	2,0	3,9	4
ВхРС-3	Поджелудочная железа	Пеметрексед	5,5	6,7	5
DAN-G	Поджелудочная железа	Пеметрексед	2,4	3,1	4
HuP-T3	Поджелудочная железа	Пеметрексед	3,7	4,6	10
KP-4	Поджелудочная железа	Пеметрексед	4,2	3,9	5
MIA PaCa-2	Поджелудочная железа	Пеметрексед	15,4	10,5	4
PK-45H	Поджелудочная	Пеметрексед	1,5	1,3	3

	железа				
SNU-410	Поджелудочная железа	Пеметрексед	10,5	12,4	4
SU.86.86	Поджелудочная железа	Пеметрексед	6,1	5,8	3

[00266] Как видно из показателей синергии Лоу, преимущество наблюдали *in vitro* при использовании сочетания с соединением формулы (I) для множества МТАР-нулевых линий клеток различных типов опухолей. Полезные эффекты наблюдали *in vitro* при использовании сочетания соединения формулы (I) и пеметрекседа, паклитаксела, гемцитабина или ингибиторов киназы Аутога (АВТ-348 и AZD1152-HQPA).

Пример 3: Оценка показателя аддитивности

[00267] Эксперименты для подтверждения полученных *in vitro* результатов проводили с двумя используемыми в клинической практике химиотерапевтическими средствами, которые стабилизируют микротрубочки во время митоза, паклитакселом и доцетакселом. Основным механизмом действия каждого из паклитаксела и доцетаксела является гиперстабилизация микротрубочек. Микротрубочки состоят из повторяющихся белков цитоскелета α -тубулина и β -тубулина, ответственных за множество клеточных процессов, включая правильное разделение хромосом во время митоза. Паклитаксел и доцетаксел непосредственно взаимодействуют с микротрубочками и противодействуют деполимеризации микротрубочек, что препятствует разделению хромосом в результате того, что отсутствует стабильное прикрепление кинетохор к микротрубочкам. В активно делящихся раковых клетках, обработанных паклитакселом и доцетакселом, активируется контрольная точка сборки веретена, что приводит к остановке роста в метафазе, или митотическое проскальзывание приводит к образованию тетраплоидных клеток, которые в конечном итоге погибают. Смотри Montero, A., Fossella, F., Hortobagyi, G. & Valero, V. Docetaxel for treatment of solid tumours: a systematic review of clinical data. *Lancet. Oncol.* **6**, 229-39 (2005); и Weaver, B. A. How Taxol/paclitaxel kills cancer cells. *Mol. Biol. Cell* **25**, 2677-81 (2014).

[00268] Оценку клеточного роста проводили с использованием анализа Cell Titer-Glo, снимая показатели для линии клеток НСТ116 МТАР-/-, а также линии клеток рака поджелудочной железы КР4 МТАР-/- и линии клеток немелкоклеточного рака легкого Н2122 МТАР ДТ, которые были превращены в «фармакологически» МТАР-нулевые клетки при помощи ингибитора МТАР, для оценки взаимодействия соединения формулы I с паклитакселом и доцетакселом. Благоприятные эффекты между доцетакселом, паклитакселом и соединением формулы (I) определяли с использованием показателя аддитивности (CI) терапевтических средств, описанного выше в настоящем документе, который позволяет количественно определять эффект сочетания терапевтических средств. Результаты оценки показателя аддитивности для НСТ116 МТАР-/-, КР4 и «фармакологически» МТАР-нулевых клеток Н2122 показали, что как паклитаксел, так и

доцетаксел, имеют синергический эффект на ингибирование роста клеток при объединении с соединением формулы (I), как проиллюстрировано на Фигуре 7.

[00269] Методы и материалы для Примера 3 приведены ниже в настоящем документе. В Таблицах 7-10 приведены материалы для оценки клеточного роста.

Таблица 7: Основные среды		
Название	Поставщик	Каталожный №
RPMI	ThermoFisher (Gibco)	21875-091
DMEM	ThermoFisher (Gibco)	41966-029
F12 (Среда Хэма F12)	ThermoFisher (Gibco)	21765-029
Среда Мак-коя 5A	ThermoFisher (Gibco)	26600-023
DMEM:F12	ThermoFisher (Gibco)	11320-074
MEM (EMEM)	ThermoFisher (Gibco)	31095-029
Среда Хэма F10	ThermoFisher (Gibco)	31550-023
F12K	ThermoFisher (Gibco)	21127-022
Таблица 8: Состав особых сред		
HITES		
DMEM:F12		
0,005 мг/мл человеческого инсулина		
0,01 мг/мл трансферрина		
20 нМ селенит натрия		
10 нМ гидрокортизон		
10 нМ бета-эстрадиол		
дополнительный 2 мМ L-глутамин		
Таблица 9: Добавки для сред		
Название	Поставщик	Каталожный №
ЭБС	ThermoFisher (Gibco)	10270106
Пенициллин-Стрептомицин	ThermoFisher (Gibco)	15140122
HEPES	ThermoFisher (Gibco)	15630056
L-глутамин	ThermoFisher (Gibco)	25030081
NEAA	ThermoFisher (Gibco)	11140035
Лошадиная сыворотка	ThermoFisher (Gibco)	16050122
Бикарбонат натрия	Sigma	S5761
Пируват натрия	Sigma	P5280
Гидрокортизон	Sigma	H0888

EGF	Sigma	E9644
Таблица 10: Другие реагенты		
Название	Поставщик	Каталожный №
Трипсин	ThermoFisher (Gibco)	25200056
PBS	ThermoFisher (Gibco)	14190169
DMCO	Sigma	D2650
CellTiter-Glo 2.0	Promega	G9243

[00270] Способ, с использованием которого проводили высокопроизводительный скрининг, описан в настоящем документе. Конечный результат в данном анализе основан на количественном определении АТФ в качестве показателя жизнеспособных клеток.

[00271] Линейные клетки, хранящиеся в жидком азоте, размораживают и размножают в ростовой среде. После достижения клетками ожидаемого времени удвоения начинают скрининг. Клетки высевают в ростовой среде в черные 384-луночные обработанные планшеты для культивирования тканей в количестве 500-1500 клеток на лунку (как отмечено в Analyzer). Клетки уравнивают в аналитических планшетах путем центрифугирования и помещают в инкубаторы (соединенные с модулями дозирования) при 37°C на двадцать четыре часа перед обработкой. Во время обработки собирают набор аналитических планшетов (которые не получают обработку) и измеряют уровни АТФ путем добавления CellTiter-Glo 2.0 (Promega). Для этих T_{ноль} (T₀) планшетов снимают показания на сверхчувствительных люминесцентных планшетных ридерах Envision (Perkin Elmer). Аналитические планшеты инкубируют с соединением в течение 96 часов, а затем анализируют с использованием CellTiter-Glo 2.0. Все точки данных собирают с помощью автоматизированных процессов, проводят контроль качества и анализируют с использованием фирменного программного обеспечения Horizon. Показания в аналитических планшетах принимают, если они соответствуют следующим стандартам контроля качества: относительные исходные значения единообразны на протяжении всего эксперимента, показатели Z-фактора превышают 0,6 и необработанные/контроли с растворителем на планшете воспроизводятся единообразно.

[00272] Ингибирование роста (ИР) использовали в качестве меры клеточного роста. ИР, в процентах, рассчитывают с использованием следующего теста и уравнения:

$$\text{Если } T < V_0 : 100 * \left(1 - \frac{T - V_0}{V_0}\right)$$

$$\text{Если } T \geq V_0 : 100 * \left(1 - \frac{T - V_0}{V - V_0}\right)$$

где T представляет собой значение сигнала для тестируемого препарата, V представляет собой значение для необработанного/контроля с растворителем и V₀ представляет собой значение для необработанного/контроля с растворителем в момент времени ноль (в просторечии называемые T₀ планшеты). Эта формула получена из расчета ингибирования роста, используемого в высокопроизводительном скрининге NCI-60

Национального института рака. Весь анализ данных проводили в режиме ингибирования роста (за исключением особо отмеченных случаев).

[00273] Показатель ИР, равный 0%, означает отсутствие ингибирования роста, и может быть получен в случаях, когда показатель Т через 96 часов сопоставим с показателем V за соответствующий период времени. Показатель ИР, равный 100%, означает полное ингибирование роста (цитостаз), и в этом случае клетки, обработанные соединением, через 96 часов будут иметь такой же конечный показатель, как T0 контрольных клеток. Показатель ИР, равный 200%, означает полную гибель (цитотоксичность) всех клеток в культуральной лунке, и в этом случае показатель Т через 96 часов будет ниже, чем T0 контроль (значения около, или равные нулю).

[00274] Ингибирование является мерой жизнеспособности клеток. Уровни ингибирования, равные 0%, означают, что отсутствует ингибирование роста клеток при обработке. Уровень ингибирования, равный 100%, означает отсутствие удвоений числа клеток во время периода обработки. Как цитостатическое, так и цитотоксическое, воздействие может приводить к 100% ингибированию. Ингибирование, в процентах, рассчитывают следующим образом: $I=1-T/U$, где Т соответствует обработанным клеткам, и U соответствует необработанным/контролю с растворителем.

Пример 4: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и доцетакселом в модели ксенотрансплантата клеток рака поджелудочной железы КР4

[00275] Цель исследования: целью данного исследования являлась оценка потенциальной эффективности соединения формулы (I), вводимого один раз в сутки (п/о), отдельно и в сочетании с доцетакселом в отношении сформировавшихся ксенотрансплантатов опухолей МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы (КР4) у самок мышей.

[00276] Дизайн исследования: самкам мышей СВ-17 SCID в возрасте 5-6 недель подкожно инокулировали 1×10^7 клеток КР4 в смеси бессывороточная среда+матригель (1:1). Мышей рандомизировали в день 26 после достижения опухолями объема 200 мм³ в группы лечения и вводили им дозы, указанные в Таблице 11.

Таблица 11. Дизайн исследования/Схемы лечения				
Группа	Кол-во животных	Лечение	Путь введения	Доза и режим
1	12	Растворитель №1: в/в Q7D 0,9% NaCl + Растворитель №2: п/о QD	в/в п/о	5 мл/кг, (Q7Dx4) 10 мл/кг, (QDx29)
2	12	Соединение формулы (I)	п/о	100 мг/кг, (QDx29)
3	12	Доцетаксел	в/в	5 мг/кг, (Q7Dx4)
4	12	Соединение формулы (I) + доцетаксел (сочетание)	п/о + в/в	100 мг/кг, (QDx29) 5 мг/кг, (Q7Dx4)

[00277] Материалы и методы: объем опухолей измеряли дважды в неделю в двух измерениях с использованием штангенциркуля, и объем выражали в размерности мм³, рассчитывая по формуле: $V = (L \times W \times W)/2$, где V представляет собой объем опухоли, L представляет собой длину опухоли (самое длинное измерение опухоли) и W представляет собой ширину опухоли (измерение, перпендикулярное к L). Массу тела измеряли дважды в неделю.

[00278] Соединение формулы (I) использовали в виде препарата, содержащего аморфное соединение формулы (I). Соединение хранили при 4°C защищенным от света. Соединение формулы (I) формулировали в растворителе ежедневно. Сформулированное соединение формулы (I) стабильно в течение 24 часов в случае хранения при 4°C с защитой от света.

[00279] Соединение формулы (I) вводили перорально в дозе 100 мг/кг один раз в сутки животным в группах 2 и 4.

[00280] Доцетаксел приобретали у компании MyoDerm (каталожный № 66758-0050-01) и формулировали в 0,9% NaCl для стерильной инъекции. Доцетаксел вводили в/в в дозе 5 мг/кг животным в группах 3 и 4.

[00281] Препарат растворителя для группы 1 (только растворитель) соответствовал растворителю для препарата соединения формулы (I). Растворитель заново формулировали ежедневно, он стабилен в течение 24 часов в случае хранения при 4°C.

Результаты:

[00282] Введение растворителя хорошо переносилось, с 0 потерей массы тела (ПМТ) в течение исследования. Объем опухолей достигал медианы 1687,4 мм³ в день 19 лечения (Таблица 28), день умерщвления группы 1.

[00283] Введение только 100 мг/кг соединения формулы (I) (группа 2) хорошо переносилось, с максимальной медианной ПМТ, составляющей 3% в день 4 лечения. Объем опухолей достигал медианы 1426,7 мм³ в день 36 лечения, день умерщвления группы 2.

[00284] Введение только 5 мг/кг доцетаксела хорошо переносилось, с максимальной медианной ПМТ, составляющей 3% в день 1 лечения. Объем опухолей достигал медианы 1365,8 мм³ в день 36 лечения, день умерщвления группы 3.

[00285] Введение сочетания соединения формулы (I) и доцетаксела хорошо переносилось, с медианной ПМТ, составляющей 3% в день 4 лечения. Объем опухолей достигал медианы 1075,3 мм³ в день 54 лечения, день умерщвления группы 4.

[00286] Объемы опухолей для каждой группы приведены в Таблице 12 и проиллюстрированы графически на Фигуре 8. Комбинированный способ лечения описан в настоящем документе, и результаты приведены в Таблице 13.

День (после начала лечения)	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)

1	184,6(15,9)	186,1 (17,0)	189,4(16,8)	187,0(16,1)
3	281,6(30,1)	245,6(18,7)	236,6(20,9)	224,6(23,0)
5	335,2(29,2)	251,2(22,3)	224,0(16,8)	205,4(17,3)
8	494,3(55,9)	288,1(27,6)	229,2(21,3)	213,6(17,6)
12	755,7(84,0)	330,8(42,5)	257,5(24,6)	158,7(14,7)
15	1159,8(128,9)	426,1(52,4)	339,1(37,3)	117,8(13,1)
19	1687,4(147,3)	582,8(68,9)	550,0(69,2)	113,0(12,2)
22		724,9(91,3)	798,2(113,3)	115,9(10,5)
26		557,7(59,1)	867,8(135,0)	65,1(8,1)
27		759,8(99,9)	877,8(127,3)	72,6(8,0)
29		911,1(133,6)	1273,6(182,3)	78,0(9,2)
33		1150,9(100,9)	1307,6(241,5)	113,4(17,6)
36		1426,7(113,5)	1365,8(236,3)	166,6(33,1)
40				259,3(68,4)
43				385,8(125,7)
47				681,2(158,1)
51				773,4(82,9)
54				1075,3(112,6)
Таблица 13. Комбинированный статистический анализ для дней 0-19				
Среднее значение AUC Группа 1= 17,673327				
Среднее значение AUC Группа 2= 9,078992				
Среднее значение AUC Группа 3= 8,951130				
Среднее значение AUC Группа 4= -7,824595				
<i>In vivo</i> показатель синергии: -46,2923059814358				
p-значение: 0,000255197802850549				

Пример 5: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и паклитакселом в модели ксенотрансплантата рака поджелудочной железы (PA0372) на самках «голых» мышей BALB/c.

[00287] Цель исследования: целью данного исследования являлась оценка потенциальной терапевтической эффективности соединения формулы (I) в качестве единственного лечебного препарата или в сочетании с паклитакселом в NuPrime® модели ксенотрансплантата рака поджелудочной железы PA0372 (MTAP-дефицитная модель) на самках «голых» мышей BALB/c.

[00288] Дизайн исследования: фрагменты опухоли PA0372 инокулировали «голым» мышам BALB/c, и лечение начинали, когда опухоли достигали среднего объема опухоли примерно 158 мм³. Тестируемым средством было соединение формулы (I) в виде

отдельного средства в дозе 100 мг/кг (группа 2), а также в сочетании с 15 мг/кг паклитаксела.

Таблица 14. Дизайн исследования/Схемы лечения				
Группа	Кол-во животных	Лечение	Путь введения	Доза и режим
1	12	Растворитель	п/о	QD×29 дней
2	12	Соединение формулы (I)	п/о	100 мг/кг QD×29 дней
3	12	Паклитаксел	в/б	15 мг/кг дни 1, 8, 15, 29
4	12	Соединение формулы (I) Паклитаксел	п/о в/б	100 мг/кг QD×29 дней 15 мг/кг, дни 1, 8, 15, 29

[00289] Материалы и методы: объем опухолей измеряли дважды в неделю в двух измерениях с использованием штангенциркуля, и объем выражали в размерности мм³, рассчитывая по формуле: $V = (L \times W \times W)/2$, где V представляет собой объем опухоли, L представляет собой длину опухоли (самое длинное измерение опухоли) и W представляет собой ширину опухоли (измерение, перпендикулярное к L). Массу тела измеряли дважды в неделю.

[00290] Соединение формулы (I) использовали в виде препарата, содержащего аморфное соединение формулы (I). Соединение хранили при 4°C защищенным от света. Соединение формулы (I) формулировали в растворителе ежедневно. Сформулированное соединение формулы (I) стабильно в течение 24 часов в случае хранения при 4°C с защитой от света.

[00291] Соединение формулы (I) вводили перорально в дозе 100 мг/кг один раз в сутки животным в группах 2 и 4.

[00292] Паклитаксел приобретали у компании Selleck (каталожный № S1150) и формулировали в смеси 5% ДМСО+5% Tween 80+90% ддН₂O. Паклитаксел вводили в/в в дозе 15 мг/кг животным в группах 3 и 4.

[00293] Препарат растворителя для группы 1 (только растворитель) соответствовал растворителю для препарата соединения формулы (I). Растворитель заново формулировали ежедневно, он стабилен в течение 24 часов в случае хранения при 4°C.

[00294] Опухоли от группы мышей с человеческими первичными опухолями поджелудочной железы PA0372 собирали, разрезали на фрагменты и инокулировали «голым» мышам BALB/c. Каждой мышце инокулировали подкожно в правый бок фрагмент PA0372 (P5, диаметром 2-4 мм) для развития опухоли.

[00295] Животных с опухолями случайным образом распределяли в 4 разные группы исследования на основании объема их опухолей. Средний объем опухоли при

рандомизации составлял 158 мм³. День рандомизации и начала дозирования считали днем 1 исследования.

Результаты:

[00296] Введение растворителя хорошо переносилось, с 0 потерей массы тела (ПМТ) в течение исследования. Объем опухолей достигал медианы 1220,39 мм³ в день 29 лечения, день умерщвления группы 1.

[00297] Введение 100 мг/кг соединения формулы (I) хорошо переносилось, с 0 потерей массы тела (ПМТ) в течение исследования. Объем опухолей достигал медианы 596,13 мм³ в день 29 лечения, день умерщвления группы 2.

[00298] Введение 15 мг/кг паклитаксела хорошо переносилось, с 0 потерей массы тела (ПМТ) в течение исследования. Объем опухолей достигал медианы 913,79 мм³ в день 29 лечения, день умерщвления группы 3.

[00299] Введение 100 мг/кг соединения формулы (I) в сочетании с 15 мг/кг паклитаксела хорошо переносилось, с 0 потерей массы тела (ПМТ) в течение исследования. Объем опухолей достигал медианы 326,71 мм³ в день 29 лечения, день умерщвления группы 4.

[00300] Результаты, приведенные в Таблице 15, проиллюстрированы на Фигуре 9. Комбинированный способ лечения описан в настоящем документе, и результаты приведены в Таблице 16.

День (после начала лечения)	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)
1	158,24(9,09)	158,09(8,96)	158,15(8,96)	157,97(8,86)
3	224,88(13,00)	194,53(13,28)	181,36(9,46)	185,23(8,01)
7	317,60(17,55)	255,54(17,84)	280,14(16,52)	231,89(14,36)
10	388,12(19,29)	296,37(17,62)	320,03(18,49)	261,43(18,51)
14	527,92(31,01)	350,19(22,39)	428,65(30,29)	317,17(27,17)
17	602,13(36,88)	371,89(22,98)	475,71(34,16)	324,04(28,01)
21	763,43(56,42)	417,05(33,40)	551,46(49,35)	292,00(37,65)
24	937,64(71,76)	458,16(38,02)	650,46(52,51)	275,91(45,87)
27	1073,57(80,67)	551,89(50,41)	760,49(58,91)	306,61(55,65)
29	1220,33(94,41)	596,13(53,32)	913,79(75,84)	326,71(62,36)

Среднее значение AUC Группа 1= 14,294180
Среднее значение AUC Группа 2= 9,102725
Среднее значение AUC Группа 3= 11,309317

Среднее значение AUC Группа 4= 5,852445
<i>In vivo</i> показатель синергии: -1,85681530064591
p-значение: 0,827797042135567

Пример 6: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и паклитакселом в модели рака поджелудочной железы PAX041 PDX

[00301] Цель исследования: целью данного исследования являлась оценка эффективности соединения формулы (I), вводимого один раз в сутки (п/о), отдельно и в сочетании с паклитакселом, в отношении сформировавшихся, полученных от пациента, ксенотрансплантатов МТАР-дефицитных опухолей (PDX), PAX041, у самок мышей Nu/Nu.

[00302] Дизайн исследования: участвующих в исследовании мышей рандомизировали в День 23 после инокуляции в четыре группы исследования на основании среднего объема опухолей, составляющего 133 мм³. Лечение начинали в День 23 после инокуляции (первый день лечения считали днем 1) с использованием схем лечения, приведенных в Таблице 17.

Группа	Кол-во животных	Лечение	Путь введения	Доза и режим
1	12	Контроль с растворителем	п/о	QDx28 дней
2	12	Соединение формулы (I)	п/о	100 мг/кг QDx28 дней
3	12	Паклитаксел	в/б	7,5 мг/кг, дни 1, 8, 22, 28
4	12	Соединение формулы (I) + Паклитаксел (одновременное введение)	п/о+в/б	100 мг/кг QDx28 дней 7,5 мг/кг, дни 1, 8, 22, 28

[00303] Материалы и методы: самок мышей Nu/Nu с массой тела 18-22 г приобретали у компании Beijing Vital River Laboratory Animal Technology Co. Ltd. (Beijing, China), животным подкожно имплантировали фрагменты опухоли PAX041. PAX041 представляет собой модель ксенотрансплантата человеческого МТАР-дефицитного первичного рака поджелудочной железы, разработанную в ChemPartner. Лечение начинали в День 23, используя схемы дозирования, приведенные в Таблице 17.

[00304] Объем опухолей измеряли дважды в неделю в двух измерениях с использованием штангенциркуля, и объем выражали в размерности мм³, рассчитывая по формуле: $V = (L \times W \times W)/2$, где V представляет собой объем опухоли, L представляет собой длину опухоли (самое длинное измерение опухоли) и W представляет собой ширину опухоли (измерение, перпендикулярное к L). Степень ингибирования роста опухоли (ИРО%) в группах каждого варианта дозирования рассчитывали по следующей формуле: $ИРО\% = [1 - (TV_i - TV_0) / (TV_{vi} - TV_{v0})] \times 100\%$; TV_i представляет собой средний объем опухоли в группе дозирования в конкретный день; TV₀ представляет собой средний объем опухоли в группе дозирования в первый день; TV_{vi} представляет собой средний объем опухоли в группе введения растворителя в конкретный день; TV_{v0} представляет собой средний объем опухоли в группе введения растворителя в первый день. Массу тела измеряли дважды в

неделю.

[00305] Соединение формулы (I) использовали в виде препарата, содержащего аморфное соединение формулы (I). Соединение хранили при 4°C защищенным от света. Соединение формулы (I) формулировали в растворителе ежедневно. Сформулированное соединение формулы (I) стабильно в течение 24 часов в случае хранения при 4°C с защитой от света.

[00306] Соединение формулы (I) вводили перорально в дозе 100 мг/кг один раз в сутки животным в группах 2 и 4.

[00307] Паклитаксел приобретали у компании Selleck в Китае (каталожный № S1150) и формулировали в смеси 5% ДМСО, 5% Tween 80 и ддН₂O. Паклитаксел вводили в/б в дозе 7,5 мг/кг животным в группах 3 и 4.

[00308] Препарат растворителя для группы 1 (только растворитель) соответствовал растворителю для препарата соединения формулы (I). Растворитель заново формулировали ежедневно, он стабилен в течение 24 часов в случае хранения при 4°C.

Результаты:

[00309] Введение растворителя (группа 1) хорошо переносилось, с 0 потерей массы тела (ПМТ) в течение исследования. Объем опухолей достигал медианы 847 мм³ в день 28, день окончания исследования.

[00310] Введение только 100 мг/кг соединения формулы (I) (группа 2) хорошо переносилось, с максимальной медианной ПМТ, составляющей 3% в день 12 лечения. Объем опухолей достигал медианы 461 мм³ в день 28 (ИРО=55%), день окончания исследования.

[00311] Введение только 7,5 мг/кг паклитаксела (группа 3) хорошо переносилось, с максимальной медианной ПМТ, составляющей 1% в день 2. Объем опухолей достигал медианы 756 мм³ в день 28 (ИРО=12%), день окончания исследования. Следует отметить, что в данном исследовании использовали более высокую дозу паклитаксела (15 мг/кг), вводимую в/б в дни 1, 8 и 22. Эта доза была непереносимой, так как 2 из 12 животных были найдены мертвыми в день 20 и 22, соответственно.

[00312] Введение сочетания соединения формулы (I) и паклитаксела (группа 4) хорошо переносилось, с медианной ПМТ, составляющей 4% в день 11. Объем опухолей достигал медианы 491 мм³ в день 28 (ИРО=50%), день окончания исследования. Следует отметить, что в данном исследовании использовали более высокую дозу паклитаксела (15 мг/кг), вводимую в/б в дни 1, 8, в сочетании с соединением формулы (I) (100 мг/кг). Это сочетание было непереносимым, так как 3 из 12 животных были найдены мертвыми в день 20.

[00313] Результаты, приведенные в Таблице 18, проиллюстрированы на Фигуре 10. Комбинированный способ лечения описан в настоящем документе, и результаты приведены в Таблице 19.

Таблица 18. Измеренные объемы опухолей и SEM				
День (после	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4

начала лечения)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)
1	213,56(17,55)	136,46(20,36)	131,21(17,42)	131,02(16,48)
5	213,56(25,22)	171,99(26,20)	200,27(34,46)	164,83(27,72)
8	274,53(36,44)	229,40(29,53)	263,46(44,22)	222,67(42,03)
12	355,95(48,03)	264,21(32,19)	338,84(64,70)	247,50(38,44)
15	412,91(47,07)	294(35,31)	392,76(78,34)	289,60(36,21)
19	493,47(58,19)	319,51(42,90)	462,46(88,86)	331,85(39,38)
22	588,02(64,77)	356,12(50,74)	550,87(102,54)	369,03(48,28)
26	733,22(73,05)	389,77(53,38)	639,8(123,19)	427,41(55,99)
28	847,34(79,74)	460,86(68,22)	756,49(143,62)	491,58(72,81)

Таблица 19. Комбинированный статистический анализ для дней 0-28

Среднее значение AUC Группа 1= 10,694597
Среднее значение AUC Группа 2= 7,152290
Среднее значение AUC Группа 3= 8,770094
Среднее значение AUC Группа 4= 7,068225
<i>In vivo</i> показатель синергии: 17,2090546384413
p-значение: 0,286373843001645

Пример 7. Комбинированная терапия соединением формулы (I) и доцетакселом в модели рака пищевода ESX030 PDX

[00314] Цель исследования: целью данного исследования являлась оценка эффективности соединения формулы (I), вводимого один раз в сутки (п/о), отдельно и в сочетании с доцетакселом, в отношении сформировавшихся, полученных от пациента, ксенотрансплантатов опухолей (PDX), ESX030, у самок мышей Nu/Nu.

[00315] Дизайн исследования:

[00316] Участвующих в исследовании мышей рандомизировали в День 20 после инокуляции в четыре группы исследования на основании среднего объема опухолей, составляющего 142 мм³. Лечение начинали в День 20 после инокуляции (первый день лечения считали днем 1) с использованием схем лечения, приведенных в Таблице 20.

Таблица 20. Дизайн исследования/Схемы лечения				
Группа	Кол-во животных	Лечение	Путь введения	Доза и режим
1	12	Контроль с растворителем	п/о	QDx36 дней
2	12	Соединение формулы I	п/о	100 мг/кг QDx57 дней
3	12	Доцетаксел	в/в	2,5 мг/кг Q7D
4	12	Доцетаксел	в/в	5,0 мг/кг Q14D в течение 4 недель, затем Q7D
5	12	Соединение формулы (I)+ доцетаксел	п/о+в/в	100 мг/кг QDx71 дней 2,5 мг/кг Q7D

		(одновременное введение)		
6	12	Соединение формулы (I)+ доцетаксел (одновременное введение)	п/о+в/в	100 мг/кг QDx71 дней 5,0 мг/кг Q14D в течение 4 недель, затем Q7D

[00317] Материалы и методы:

[00318] Самок мышей Nu/Nu с массой тела 18-22 г приобретали у компании Beijing Vital River Laboratory Animal Technology Co. Ltd. (Beijing, China), животным подкожно имплантировали фрагменты опухоли ESX030. ESX030 представляет собой модель ксенотрансплантата человеческого первичного рака пищевода, разработанную в ChemPartner.

[00319] Объем опухолей измеряли дважды в неделю в двух измерениях с использованием штангенциркуля, и объем выражали в размерности мм³, рассчитывая по формуле: $V = (L \times W \times W)/2$, где V представляет собой объем опухоли, L представляет собой длину опухоли (самое длинное измерение опухоли) и W представляет собой ширину опухоли (измерение, перпендикулярное к L). Степень ингибирования роста опухоли (ИРО%) в группах каждого варианта дозирования рассчитывали по следующей формуле: $ИРО\% = [1 - (TV_i - TV_0)/(TV_{vi} - TV_{v0})] \times 100\%$; TV_i представляет собой средний объем опухоли в группе дозирования в конкретный день; TV₀ представляет собой средний объем опухоли в группе дозирования в первый день; TV_{vi} представляет собой средний объем опухоли в группе введения растворителя в конкретный день; TV_{v0} представляет собой средний объем опухоли в группе введения растворителя в первый день.

[00320] Массу тела измеряли дважды в неделю.

[00321] Соединение формулы (I) было предоставлено в виде препарата, содержащего 25% активного фармацевтического ингредиента (АФИ). Соединение хранили при 4°C защищенным от света. Соединение формулы (I) формулировали в растворителе ежедневно. Сформулированное соединение формулы (I) стабильно в течение 24 часов в случае хранения при 4°C с защитой от света.

Соединение формулы I вводили перорально в дозе 100 мг/кг один раз в сутки животным в группах 2, 5 и 6. Доза соединения формулы I была выбрана, поскольку она составляет ½ суточной МПД 200 мг/кг. Согласно полученным ранее данным, суточное введение 200 мг/кг приводит к ИРО 74% в модели ESX030 в день 28.

[00322] Доцетаксел приобретали у компании Selleck в Китае (каталожный № S1148) и формулировали в смеси 5% ДМСО, 30% ПЭГ 300, 5% Tween 80 и ддН₂О. Доцетаксел вводили в/в в дозе 2,5 мг/кг животным в группах 3 и 5, и 5,0 мг/кг животным в группах 4 и 6.

[00323] Препарат растворителя для группы 1 (только растворитель) соответствовал растворителю для препарата соединения формулы (I). Растворитель заново формулировали ежедневно, он стабилен в течение 24 часов в случае хранения при 4°C.

[00324] Результаты:

[00325] Введение растворителя (группа 1) хорошо переносилось, с максимальной медианной ПМТ, составляющей 1% в день 2 лечения. Объем опухолей достигал медианы 1986 мм³ в день 36, день окончания исследования.

[00326] Введение только 100 мг/кг соединения формулы I (группа 2) хорошо переносилось, с максимальной медианной ПМТ, составляющей 2% в день 9 лечения. Объем опухолей достигал медианы 1710 мм³ в день 57, день окончания исследования.

[00327] Введение только 2,5 мг/кг доцетаксела (группа 3) хорошо переносилось, с максимальной медианной ПМТ, составляющей 2% в день 9 лечения. Объем опухолей достигал медианы 2201 мм³ в день 50, день окончания исследования.

[00328] Введение только 5,0 мг/кг доцетаксела (группа 4) хорошо переносилось, с максимальной медианной ПМТ, составляющей 1% в день 2. Объем опухолей достигал медианы 1643 мм³ в день 50, день окончания исследования.

[00329] Введение сочетания соединения формулы (I) и 2,5 мг/кг доцетаксела (Группа 5) хорошо переносилось, с медианной ПМТ, составляющей 2% в день 17. Объем опухолей достигал медианы 1541 мм³ в день 71, день окончания исследования.

[00330] Введение сочетания соединения формулы (I) и 5,0 мг/кг доцетаксела (группа 6) в целом хорошо переносилось, с медианной ПМТ, составляющей 2% в день 21. Одно из 12 животных в этой группе потеряло 27% массы тела и, вследствие этого, данное животное было освобождено от получения соединения формулы (I) со дня 55 до дня 60; масса тела восстановилась до 4%. Объем опухолей достигал медианы 371 мм³ в день 120 (Фигура 11, Таблица 21). В день 120 три из двенадцати животных имели опухоли размером >1000 мм³, и эти 3 животных были удалены из исследования. Последняя суточная доза доцетаксела была введена в день 134, и последняя доза соединения формулы (I) была введена в день 135. В день 136 3 из оставшихся 9 мышей имели опухоли с объемами 422 мм³, 146 мм³, 126 мм³, и эти мыши были удалены из исследования. У оставшихся в исследовании 6 мышей опухоли отсутствовали и продолжали отсутствовать до завершения исследования в день 155.

[00331] Результаты определения объема опухолей приведены в Таблице 21 и проиллюстрированы на Фигуре 11. Комбинированный способ лечения описан в настоящем документе, и результаты приведены в Таблицах 22 и 23.

Таблица 21. Измеренные объемы опухолей и SEM						
День (после начала лечения)	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5	Группа 6
	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)
1	140 (11)	142 (12)	141 (11)	142 (13)	143 (11)	142 (12)
4	199	189	197	185	179	186

	(17)	(19)	(16)	(17)	(13)	(15)
8	284 (29)	208 (26)	262 (24)	220 (18)	210 (20)	194 (17)
11	362 (38)	230 (32)	291 (30)	236 (23)	225 (22)	194 (21)
13	453 (54)	276 (40)	348 (37)	279 (30)	239 (26)	210 (22)
15	521 (63)	306 (50)	383 (37)	325 (41)	239 (27)	217 (23)
17	602 (82)	326 (50)	405 (36)	382 (56)	250 (27)	229 (26)
19	690 (87)	342 (51)	431 (39)	431 (62)	239 (32)	237 (29)
22	802 (99)	384 (55)	503 (49)	472 (65)	240 (33)	236 (30)
24	941 (122)	416 (54)	575 (55)	521 (73)	248 (38)	229 (31)
26	1106 (139)	436 (54)	661 (70)	579 (77)	260 (44)	228 (33)
29	1277 (154)	502 (57)	775 (96)	705 (101)	272 (53)	228 (36)
31	1502 (192)	570 (63)	884 (101)	835 (114)	289 (59)	260 (43)
33	1710 (201)	631 (66)	1002 (118)	978 (139)	315 (65)	300 (57)
36	1986 (199)	730 (83)	1213 (150)	1182 (158)	347 (69)	329 (63)
38		813 (96)	1396 (167)	1310 (178)	362 (70)	348 (67)
40		870 (98)	1493 (172)	1373 (179)	420 (84)	370 (74)
43		994 (112)	1723 (200)	1465 (195)	484 (95)	382 (78)
45		1049	1819	1531	543	380

		(116)	(207)	(208)	(113)	(81)
47		1125 (126)	2006 (242)	1592 (212)	588 (122)	347 (79)
50		1324 (142)	2201 (260)	1643 (211)	682 (140)	325 (77)
52		1432 (148)			724 (140)	314 (76)
54		1563 (170)			792 (146)	295 (77)
57		1710 (178)			876 (159)	281 (77)
59					987 (169)	263 (74)
61					1069 (182)	256 (72)
64					1157 (192)	223 (64)
66					1300 (213)	222 (67)
68					1396 (224)	219 (65)
71					1541 (239)	221 (68)
73						179 (60)
75						179 (60)
78						171 (55)
80						173 (54)
82						172 (54)
85						183

						(59)
87						183 (60)
89						188 (68)
92						184 (68)
94						180 (72)
96						181 (74)
99						179 (75)
101						180 (77)
103						181 (77)
106						180 (79)
110						200 (91)
113						231 (108)
115						265 (122)
117						318 (147)
120						371 (171)
122						371 (171)
124						376 (171)
127						378

						(170)
129						378 (171)
131						382 (170)
134						382 (170)
136						0
138						0
141						0
143						0
145						0
148						0
150						0
152						0
155						0

Таблица 22. Комбинированный статистический анализ при использовании низкой дозы доцетаксела (2,5 мг/кг) для дней 1-71

Среднее значение AUC Группа 1= 61,43227
Среднее значение AUC Группа 2= 45,53486
Среднее значение AUC Группа 3= 54,78606
Среднее значение AUC Группа 5= 29,15145
Показатель синергии: -15,8503185024498
p-значение: 0,185489036160427
Сочетание является аддитивным
Таблица 23. Комбинированный статистический анализ при использовании высокой дозы доцетаксела (5,0 мг/кг) для дней 1-117
Среднее значение AUC Группа 1= 113,65468
Среднее значение AUC Группа 2= 94,51125
Среднее значение AUC Группа 4= 98,12195
Среднее значение AUC Группа 6= -19,23391
Показатель синергии: -86,41301119467
p-значение: 5,50594276980121e-05
Сочетание является синергическим

Пример 8: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и доцетакселом в модели НМРЛ PDX (LUX001)

[00332] Доцетаксел (вводимый в дозе 2,5 мг/кг в/в по схеме Q7D) объединяли с соединением формулы I (вводимым в дозе 100 мг/кг п/о по схеме QD) в модели МТАР-дефицитного НМРЛ PDX (LUX001) для оценки полезного противоопухолевого эффекта сочетания. Каждая группа включала 8 самок мышей Nu/Nu со сформировавшимися опухолями LUX001. Группа 1 представляла собой группу получения растворителя.

Вследствие ПМТ у нескольких животных в группах получения соединения формулы (I) делали перерыв во введении в дни 16-21. В группе получения 100 мг/кг соединения формулы (I) (группа 2) одно животное имело 20% ПМТ в день 14, и потеря массы тела (ПМТ) восстанавливалась после перерыва в дозировании. Группа 3 представляла собой группу получения доцетаксела. В группе получения сочетания соединения формулы (I) + доцетаксел (группа 4) у одного животного была достигнута 20% ПМТ, и оно было освобождено от введения соединения формулы (I) в дни 54-59, 65-73, 77-83, и у одного животного была достигнута >20% ПМТ, и оно было освобождено от введения соединения формулы (I) в дни 38-46 и от введения доцетаксела в день 42; потеря массы тела восстановилась у обоих этих животных. Максимальная средняя ПМТ в данной группе составляла 6%. Ингибирование роста опухоли (методология описана в настоящем документе) рассчитывали в день 25, и соединение формулы (I) (группа 2) приводило к ИРО=70%, доцетаксел (группа 3) приводил к ИРО=38%, и сочетание (группа 4) приводило к ИРО=91%. Кривые роста опухолей представлены на Фигуре 12. Полезный эффект сочетания (методология описана в настоящем документе) оценивали в день 120. В группе получения сочетания 4 животных с опухолями удаляли в день 120. Оставшиеся четыре животных в данной группе не имели опухоли при введении последней дозы в день 114, и у этих животных опухоли отсутствовали до умерщвления животных в этой группе в день 141.

Пример 9: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и доцетакселом в модели НМРЛ PDX (LUX034)

[00333] Доцетаксел (вводимый в/в по схеме Q7D) объединяли с соединением формулы I (вводимым в дозе 100 мг/кг п/о по схеме QD) в модели МТАР-дефицитного НМРЛ PDX (LUX034) для оценки полезного противоопухолевого эффекта сочетания. Каждая группа включала 8 самок мышей Nu/Nu со сформировавшимися опухолями LUX034. Группа 1 получала растворитель, группа 2 получала соединение формулы (I), группа 3 получала доцетаксел (2,5 мг/кг), группа 4 получала доцетаксел (5,0 мг/кг), группа 5 получала сочетание соединения формулы (I) и доцетаксела (2,5 мг/кг) и группа 6 получала сочетание соединения формулы (I) и доцетаксела (5 мг/кг). Все варианты лечения переносились хорошо. Ингибирование роста опухоли (методология описана в настоящем документе) рассчитывали в день 43, и соединение формулы (I) (группа 2) приводило к ИРО=41%, доцетаксел 2,5 мг/кг (группа 3) приводил к ИРО=32%, доцетаксел 5,0 мг/кг (группа 4) приводил к ИРО=27%, сочетание соединения формулы (I) + доцетаксел 2,5 мг/кг (группа 5) приводило к ИРО=51%, и сочетание соединения формулы (I) + доцетаксел 5,0 мг/кг (группа 6) приводило к ИРО=60%. Кривые роста опухолей представлены на Фигуре 13. Полезный эффект сочетания (методология описана в настоящем документе) оценивали в день 43.

Пример 10: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и доцетакселом в модели НМРЛ PDX (LU6412)

[00334] Доцетаксел (вводимый в/в по схеме Q7D) объединяли с соединением формулы I (вводимым в дозе 100 мг/кг п/о по схеме QD) в модели МТАР-дефицитного

НМРЛ PDX (LU6412) для оценки полезного противоопухолевого эффекта сочетания. Каждая группа включала 8 самок «голых» мышей BALB/c со сформировавшимися опухолями LU6412. Группа 1 получала растворитель, группа 2 получала соединение формулы (I), группа 3 получала доцетаксел (2,5 мг/кг), группа 4 получала доцетаксел (5,0 мг/кг), группа 5 получала сочетание соединения формулы (I) и доцетаксела (2,5 мг/кг), и группа 6 получала сочетание соединения формулы (I) и доцетаксела (5 мг/кг). Все варианты лечения переносились хорошо, со следующими исключениями: 1) в группах 4 и 6 был сделан перерыв во введении доцетаксела (5 мг/кг) вследствие того, что два животных в группе 6 имели результаты, приближающиеся к 20% ПМТ, после перерыва во введении ПМТ восстанавливалась, 2) в группе 5 одно животное было найдено мертвым в день 18, 3) в день 38 одно животное в группе 8 потеряло 22,5% массы тела и, вследствие этого, для него был сделан перерыв во введении как соединения формулы I, так и доцетаксела, и ПМТ восстановилась у этого животного, и, наконец, 4) в группе 6 одно животное потеряло 24% массы тела и одно животное потеряло 22% МТ, для обоих животных был сделан перерыв во введении как доцетаксела, так и соединения формулы I, ПМТ не восстановилась, и эти два животных были умерщвлены в день 39. Ингибирование роста опухоли (методология описана в настоящем документе) рассчитывали в день 39, и соединение формулы (I) (группа 2) приводило к ИРО=52%, доцетаксел 2,5 мг/кг (группа 3) приводил к ИРО=22%, доцетаксел 5,0 мг/кг (группа 4) приводил к ИРО=57%, сочетание соединения формулы (I) + доцетаксел 2,5 мг/кг (группа 5) приводило к ИРО=64% и сочетание соединения формулы (I) + доцетаксел 5,0 мг/кг (группа 6) приводило к ИРО=92%. Кривые роста опухолей представлены на Фигуре 14. Полезный эффект сочетания (методология описана в настоящем документе) оценивали в день 39.

Пример 11: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и доцетакселом в модели НМРЛ PDX (СТG-1194)

[00335] Доцетаксел (вводимый в/в по схеме Q7D) объединяли с соединением формулы I (вводимым в дозе 100 мг/кг п/о по схеме QD) в модели МТАР-дефицитного НМРЛ PDX (СТG-1194) для оценки полезного противоопухолевого эффекта сочетания. Каждая группа включала 12 самок бестимусных «голых» мышей со сформировавшимися опухолями СТG-1194. Группа 1 получала растворитель, группа 2 получала соединение формулы (I), группа 3 получала доцетаксел (5,0 мг/кг) и группа 4 получала сочетание соединения формулы (I) и доцетаксела (5 мг/кг). Все варианты лечения переносились хорошо, за исключением того, что у одного животного в группе 4 наблюдалась 15% ПМТ в день 14 и, вследствие этого, был сделан перерыв во введении доцетаксела в день 14, и ПМТ восстановилась. Ингибирование роста опухоли (методология описана в настоящем документе) рассчитывали в день 14, и соединение формулы (I) (группа 2) приводило к ИРО=38%, доцетаксел 5,0 мг/кг (группа 3) приводил к ИРО=41% и сочетание соединения формулы (I) + доцетаксел 5,0 мг/кг (группа 4) приводило к ИРО=66%. Кривые роста опухолей представлены на Фигуре 15. Полезный эффект сочетания (методология описана в настоящем документе) оценивали в день 12.

Пример 12: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и паклитакселом в модели рака поджелудочной железы PDX (PAX001)

[00336] Паклитаксел (вводимый в/в по схеме Q7Dx2) объединяли с соединением формулы I (вводимым в дозе 100 мг/кг п/о по схеме QD) в модели МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы PDX (PAX001) для оценки полезного противоопухолевого эффекта сочетания. Каждая группа включала 12 самок мышей Nu/Nu со сформировавшимися опухолями PAX001. Группа 1 получала растворитель, группа 2 получала соединение формулы (I), группа 3 получала паклитаксел (5,0 мг/кг), группа 4 получала паклитаксел (10,0 мг/кг), группа 5 получала сочетание соединения формулы (I) и паклитаксела (5 мг/кг) и группа 6 получала сочетание соединения формулы (I) и паклитаксела (10 мг/кг). Все варианты лечения переносились хорошо. Ингибирование роста опухоли (методология описана в настоящем документе) рассчитывали в день 28, и соединение формулы (I) (группа 2) приводило к ИРО=94%, паклитаксел 5 мг/кг (группа 3) приводил к ИРО=0%, паклитаксел 10,0 мг/кг (группа 4) приводил к ИРО=22%, сочетание соединения формулы (I) + паклитаксел 5,0 мг/кг (группа 5) приводило к ИРО=93% и сочетание соединения формулы (I) + паклитаксел 10,0 мг/кг (группа 6) приводило к ИРО=93%. Кривые роста опухолей представлены на Фигуре 16. Полезный эффект сочетания (методология описана в настоящем документе) оценивали в день 28.

Пример 13: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и доцетакселом в модели рака пищевода PDX (ES2263)

[00337] Доцетаксел (вводимый в/в по схеме Q7D) объединяли с соединением формулы I (вводимым в дозе 100 мг/кг п/о по схеме QD) в модели МТАР-дефицитного рака пищевода PDX (ES2263) для оценки полезного противоопухолевого эффекта сочетания. Каждая группа включала 12 самок «голых» мышей BALB/c со сформировавшимися опухолями ES2263. Группа 1 получала контрольный растворитель, группа 2 получала соединение формулы (I), группа 3 получала доцетаксел (2,5 мг/кг), группа 4 получала доцетаксел (5,0 мг/кг), группа 5 получала сочетание соединения формулы (I) и доцетаксела (2,5 мг/кг) и группа 6 получала сочетание соединения формулы (I) и доцетаксела (5 мг/кг). Все варианты лечения переносились хорошо, за исключением того, что одно животное в группе 5 было найдено мертвым в день 8, и одно животное в группе 6 было найдено мертвым в день 19. Ингибирование роста опухоли (методология описана в настоящем документе) рассчитывали в день 19, и соединение формулы (I) (группа 2) приводило к ИРО=27%, доцетаксел 2,5 мг/кг (группа 3) приводил к ИРО=-17%, доцетаксел 5,0 мг/кг (группа 4) приводил к ИРО=12%, сочетание соединения формулы (I) + доцетаксел 2,5 мг/кг (группа 5) приводило к ИРО=25%, и сочетание соединения формулы (I) + доцетаксел 5,0 мг/кг (группа 6) приводило к ИРО=57%. Кривые роста опухолей представлены на Фигуре 17. Полезный эффект сочетания (методология описана в настоящем документе) оценивали в день 19.

Пример 14: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и гемцитабином в модели рака поджелудочной железы PAX041 PDX

[00338] Цель исследования: целью данного исследования являлась оценка эффективности соединения формулы (I), вводимого один раз в сутки (п/о), отдельно и в сочетании с гемцитабином, в отношении сформировавшихся, полученных от пациента, ксенотрансплантатов МТАР-дефицитных опухолей (PDX), PAX041, у самок мышей.

[00339] Дизайн исследования: участвующих в исследовании мышей рандомизировали в День 23 после инокуляции в четыре группы исследования на основании среднего объема опухолей, составляющего 133 мм³. Лечение начинали в День 23 после инокуляции (первый день лечения считали днем 1) с использованием схем лечения, приведенных в Таблице 24.

Таблица 24. Дизайн исследования/Схемы лечения				
Группа	Кол-во животных	Лечение	Путь введения	Доза и режим
1	12	Контроль с растворителем	п/о	QDx28 дней
2	12	Соединение формулы (I)	п/о	100 мг/кг QDx28 дней
3	12	Гемцитабин	в/б	20 мг/кг Q3Dx10 дней
4	12	Соединение формулы (I) + гемцитабин (одновременное введение)	п/о+в/б	100 мг/кг QDx28 дней 20 мг/кг Q3Dx10 дней

[00340] Материалы и методы: самок мышей Nu/Nu с массой тела 18-22 г приобретали у компании Beijing Vital River Laboratory Animal Technology Co. Ltd. (Beijing, China), животным подкожно имплантировали фрагменты опухоли PAX041. PAX041 представляет собой модель ксенотрансплантата человеческого МТАР-дефицитного первичного рака поджелудочной железы, разработанную в ChemPartner.

[00341] Объем опухолей измеряли дважды в неделю в двух измерениях с использованием штангенциркуля, и объем выражали в размерности мм³, рассчитывая по формуле: $V = (L \times W \times W)/2$, где V представляет собой объем опухоли, L представляет собой длину опухоли (самое длинное измерение опухоли) и W представляет собой ширину опухоли (измерение, перпендикулярное к L). Степень ингибирования роста опухоли (ИРО%) в группах каждого варианта дозирования рассчитывали по следующей формуле: $ИРО\% = [1 - (TV_i - TV_0)/(TV_{vi} - TV_{v0})] \times 100\%$; TV_i представляет собой средний объем опухоли в группе дозирования в конкретный день; TV₀ представляет собой средний объем опухоли в группе дозирования в первый день; TV_{vi} представляет собой средний объем опухоли в группе введения растворителя в конкретный день; TV_{v0} представляет собой средний объем опухоли в группе введения растворителя в первый день. Массу тела измеряли дважды в неделю.

[00342] Соединение формулы (I) использовали в виде препарата, содержащего аморфное соединение формулы (I). Соединение хранили при 4°C защищенным от света. Соединение формулы (I) формулировали в растворителе ежедневно. Сформулированное соединение формулы (I) стабильно в течение 24 часов в случае хранения при 4°C с защитой от света.

[00343] Соединение формулы (I) вводили перорально в дозе 100 мг/кг один раз в сутки животным в группах 2 и 4.

[00344] Гемцитабин приобретали у компании Selleck в Китае (каталожный № S1149) и формулировали в стерильном солевом растворе. Гемцитабин вводили в/б в дозе 20 мг/кг животным в группах 3 и 4. Препарат растворителя для группы 1 (только растворитель) соответствовал растворителю для препарата соединения формулы (I). Растворитель заново формулировали ежедневно, он стабилен в течение 24 часов в случае хранения при 4°C.

Результаты:

[00345] Введение растворителя (группа 1) хорошо переносилось, с 0 потерей массы тела (ПМТ) в течение исследования. Объем опухолей достигал медианы 847 мм³ в день 28, день окончания исследования.

[00346] Введение только 100 мг/кг соединения формулы (I) (группа 2) хорошо переносилось, с максимальной медианной ПМТ, составляющей 3% в день 12 лечения. Объем опухолей достигал медианы 461 мм³ в день 28 (ИРО=55%), день окончания исследования.

[00347] Введение только 20 мг/кг гемцитабина (группа 3) хорошо переносилось, без медианной ПМТ в течение исследования. Объем опухолей достигал медианы 728 мм³ в день 28 (ИРО=16%), день окончания исследования.

[00348] Введение сочетания соединения формулы (I) и гемцитабина (группа 4) хорошо переносилось, с медианной ПМТ, составляющей 3% в день 24. Объем опухолей достигал медианы 357 мм³ в день 28 (ИРО=69%), день окончания исследования.

[00349] Результаты измерения объема опухолей, приведенные в Таблице 25, проиллюстрированы на Фигуре 18. Полезный эффект сочетания (методология описана в настоящем документе) оценивали с использованием данных в день 1-26, результаты данного анализа приведены в Таблице 26.

День (после начала лечения)	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)
1	133,59(17,55)	136,46(20,36)	130,73(18,10)	132,53(17,47)
5	213,56(25,22)	171,99(26,20)	180,92(23,27)	167,01(20,15)
8	274,53(36,44)	229,40(29,53)	238,21(25,14)	199,62(23,08)
12	355,95(48,03)	264,21(32,19)	308,15(36,89)	229,58(24,62)
15	412,91(47,07)	294(35,31)	359,28(38,26)	249,01(24,88)
19	493,47(58,19)	319,51(42,90)	420,45(46,58)	274,80(30,58)
22	588,02(64,77)	356,12(50,74)	505,47(59,31)	303,70(33,27)
26	733,22(73,05)	389,77(53,38)	623,25(74,71)	336,98(38,91)
28	847,34(79,74)	460,86(68,22)	728,00(87,33)	357,25(42,38)

Таблица 26: Комбинированный статистический анализ для дней 0-26
Среднее значение AUC Группа 1= 10,694597
Среднее значение AUC Группа 2= 7,152290
Среднее значение AUC Группа 3= 9,565932
Среднее значение AUC Группа 4= 6,235600
<i>In vivo</i> показатель синергии: 1,98207582213063
p-значение: 0,892547602901707

Пример 15: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и гемцитабином в модели рака поджелудочной железы PDX (PAX001)

[00350] Цель исследования: целью данного исследования являлась оценка эффективности соединения формулы (I), вводимого один раз в сутки (п/о), отдельно и в сочетании с гемцитабином, в отношении сформировавшихся, полученных от пациента, ксенотрансплантатов МТАР-дефицитных опухолей (PDX), PAX001, у самок мышей.

[00351] Дизайн исследования: участвующих в исследовании мышей рандомизировали в День 18 после инокуляции в четыре группы исследования на основании среднего объема опухолей, составляющего 188 мм³. Лечение начинали в День 18 после инокуляции (первый день лечения считали днем 1) с использованием схем лечения, приведенных в Таблице 27.

Таблица 27. Дизайн исследования/Схемы лечения				
Группа	Кол-во животных	Лечение	Путь введения	Доза и режим
1	12	Контроль с растворителем	п/о	QDx21 дней
2	12	Соединение формулы (I)	п/о	100 мг/кг QDx21 день
3	12	Гемцитабин	в/б	20 мг/кг Q3Dx7 дней
4	12	Соединение формулы (I) + гемцитабин (одновременное введение)	п/о+в/б	100 мг/кг QDx21 день 20 мг/кг Q3Dx7 дней

[00352] Материалы и методы: самок мышей Nu/Nu с массой тела 18-22 г приобретали у компании Beijing Vital River Laboratory Animal Technology Co. Ltd. (Beijing, China), животным подкожно имплантировали фрагменты опухоли PAX001. PAX001 представляет собой модель ксенотрансплантата человеческого МТАР-дефицитного первичного рака поджелудочной железы, разработанную в ChemPartner.

[00353] Объем опухолей измеряли дважды в неделю в двух измерениях с использованием штангенциркуля, и объем выражали в размерности мм³, рассчитывая по формуле: $V = (L \times W \times W)/2$, где V представляет собой объем опухоли, L представляет собой длину опухоли (самое длинное измерение опухоли) и W представляет собой ширину опухоли (измерение, перпендикулярное к L). Степень ингибирования роста опухоли (ИРО%) в группах каждого варианта дозирования рассчитывали по следующей формуле: $ИРО\% = [1 - (TV_i - TV_0)/(TV_{vi} - TV_{v0})] \times 100\%$; TV_i представляет собой средний объем опухоли в группе дозирования в конкретный день; TV₀ представляет собой средний объем опухоли в группе дозирования в первый день; TV_{vi} представляет собой средний объем опухоли в группе введения растворителя в конкретный день; TV_{v0} представляет собой средний объем опухоли в группе введения растворителя в первый день. Массу тела измеряли дважды в

неделю.

[00354] Соединение формулы (I) использовали в виде препарата, содержащего аморфное соединение формулы (I). Соединение хранили при 4°C защищенным от света. Соединение формулы (I) формулировали в растворителе ежедневно. Сформулированное соединение формулы (I) стабильно в течение 24 часов в случае хранения при 4°C с защитой от света.

[00355] Соединение формулы (I) вводили перорально в дозе 100 мг/кг один раз в сутки животным в группах 2 и 4.

[00356] Гемцитабин приобретали у компании Selleck в Китае (каталожный № S1149) и формулировали в стерильном солевом растворе. Гемцитабин вводили в/б в дозе 20 мг/кг животным в группах 3 и 4.

[00357] Препарат растворителя для группы 1 (только растворитель) соответствовал растворителю для препарата соединения формулы (I). Растворитель заново формулировали ежедневно, он стабилен в течение 24 часов в случае хранения при 4°C.

Результаты:

[00358] Введение растворителя (группа 1) хорошо переносилось, с максимальной медианной ПМТ, составляющей 2% в день 2 лечения. Объем опухолей достигал медианы 965 мм³ в день 21, день окончания исследования.

[00359] Введение только 100 мг/кг соединения формулы (I) (группа 2) хорошо переносилось, с максимальной медианной ПМТ, составляющей 7% в день 14 лечения. Объем опухолей достигал медианы 320 мм³ в день 21 (ИРО=83%), день окончания исследования.

[00360] Введение только 10 мг/кг гемцитабина хорошо переносилось, с максимальной медианной ПМТ, составляющей 5% в день 8. Объем опухолей достигал медианы 529 мм³ в день 21 (ИРО=56%), день окончания исследования.

[00361] Введение сочетания соединения формулы (I) и гемцитабина хорошо переносилось, с медианной ПМТ, составляющей 5% в день 9. Объем опухолей достигал медианы 274 мм³ в день 21 (ИРО=89%), день окончания исследования.

[00362] Результаты измерения объема опухолей в каждой группе, приведенные в Таблице 28, проиллюстрированы на Фигуре 19. Полезный эффект сочетания (методология описана в настоящем документе) оценивали с использованием данных, полученных в дни 0-21. Результаты для сочетания приведены в Таблице 29.

Таблица 28. Измеренные объемы опухолей и SEM				
День (после начала лечения)	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)
1	189,63(12,67)	189,33(12,19)	187,17(12,78)	187,79(12,24)
4	302,53(31,92)	243,82(16,22)	239,38(17,76)	239,54(25,83)
7	377,06(37,59)	275,39(28,63)	308,93(19,84)	264,09(30,27)

10	519,97(63,74)	305,37(28,65)	331,79(29,21)	258,68(34,01)
14	651,06(93,91)	303,34(30,54)	381,40(35,41)	250,15(33,52)
17	776,03(110,94)	310,62(35,80)	454,64(45,32)	255,44(34,93)
21	965,37(129,29)	319,73(37,98)	529,15(56,00)	274,21(41,47)

Таблица 29. Комбинированный статистический анализ для дней 0-21

Среднее значение AUC Группа 1= 7,949802
Среднее значение AUC Группа 2= 3,194364
Среднее значение AUC Группа 3= 5,059819
Среднее значение AUC Группа 4= 2,062083
<i>In vivo</i> показатель синергии: 22,110013418178
p-значение: 0,0976586381730211

Пример 16: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и гемцитабином в модели рака поджелудочной железы КР4

[00363] Цель исследования: целью данного исследования являлась оценка потенциальной эффективности соединения формулы (I), вводимого один раз в сутки (п/о), отдельно и в сочетании с гемцитабином, в отношении сформировавшихся ксенотрансплантатов МТАР-дефицитных опухолей поджелудочной железы (КР4) у самок мышей.

[00364] Дизайн исследования: самкам мышей СВ-17 SCID в возрасте 5-6 недель подкожно инокулировали 1×10^7 клеток КР4 в смеси бессывороточная среда+матригель (1:1). Мышей рандомизировали в День 26 после того, как опухоли достигали среднего объема 200 мм^3 , в группы лечения и вводили дозы, приведенные ниже в Таблице 30.

Группа	Кол-во животных	Лечение	Путь введения	Доза и режим
1	12	Растворитель №1: 0,9% NaCl + Растворитель №2:	в/в+п/о	5 мл/кг Q7Dx4 10 мл/кг QDx29
2	12	Соединение формулы (I)	п/о	100 мг/кг QDx29
3	12	Гемцитабин	в/б	20 мг/кг Q3Dx10
4	12	Соединение формулы (I) + гемцитабин (одновременное введение)	п/о+в/б	100 мг/кг QDx29 20 г/кг Q3Dx10

[00365] Материалы и методы: объем опухолей измеряли дважды в неделю в двух измерениях с использованием штангенциркуля, и объем выражали в размерности мм^3 , рассчитывая по формуле: $V = (L \times W \times W)/2$, где V представляет собой объем опухоли, L представляет собой длину опухоли (самое длинное измерение опухоли) и W представляет собой ширину опухоли (измерение, перпендикулярное к L). Массу тела измеряли дважды в неделю.

[00366] Соединение формулы (I) использовали в виде препарата, содержащего

аморфное соединение формулы (I). Соединение хранили при 4°C защищенным от света. Соединение формулы (I) формулировали в растворителе ежедневно. Сформулированное соединение формулы (I) стабильно в течение 24 часов в случае хранения при 4°C с защитой от света.

[00367] Соединение формулы (I) вводили перорально в дозе 100 мг/кг один раз в сутки животным в группах 2 и 4.

[00368] Гемцитабин приобретали у компании Myoderm (каталожный № 00002-7501-01) и формулировали в 0,9% NaCl для стерильной инъекции. Гемцитабин вводили в/б в дозе 20 мг/кг животным в группах 3 и 4.

[00369] Препарат растворителя для группы 1 (только растворитель) соответствовал растворителю для препарата соединения формулы (I). Растворитель заново формулировали ежедневно, он стабилен в течение 24 часов в случае хранения при 4°C.

Результаты:

[00370] Введение растворителя хорошо переносилось, с 0 потерей массы тела (ПМТ) в течение исследования. Объем опухолей достигал медианы 1687,4 мм³ в день 19 лечения, день умерщвления группы 1.

[00371] Введение только 100 мг/кг соединения формулы (I) (группа 2) хорошо переносилось, с максимальной медианной ПМТ, составляющей 3% в день 4 лечения. Объем опухолей достигал медианы 1426,7 мм³ в день 36, день умерщвления группы 2.

[00372] Введение только 20 мг/кг гемцитабина хорошо переносилось, с максимальной медианной ПМТ, составляющей 3% в день 3 лечения. Объем опухолей достигал медианы 1318,61 мм³ в день 22 лечения, день умерщвления группы 3.

[00373] Введение сочетания 100 мг/кг соединения формулы (I) и 20 мг/кг гемцитабина хорошо переносилось, с медианной ПМТ, составляющей 5% в день 10 лечения. Объем опухолей достигал медианы 1284,3 мм³ в день 36 лечения, день умерщвления группы 4.

[00374] Результаты измерения объема опухолей в каждой группе, приведенные в Таблице 31, проиллюстрированы на Фигуре 20. Полезный эффект сочетания (методология описана в настоящем документе) оценивали с использованием данных, полученных в дни 0-19. Результаты для сочетания приведены в Таблице 32.

Таблица 31. Измеренные объемы опухолей и SEM				
День (после начала лечения)	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)	Медиана (SEM)
1	184,6(15,9)	186,1(17,0)	187,5(16,5)	178,6(21,4)
3	281,6(30,1)	245,6(18,7)	239,2(17,0)	221,8(23,5)
5	335,2(29,2)	251,2(22,3)	238,7(16,7)	233,7(28,9)
8	494,3(55,9)	288,1(27,6)	246,3(18,7)	239,1(27,3)

12	755,7(84,0)	330,8(42,5)	307,8(23,3)	229,7(32,0)
15	1159,8(128,9)	426,1(52,4)	584,3(60,7)	245,6(30,8)
19	1687,4(147,3)	582,8(68,9)	986,8(108,7)	337,4(49,6)
22		724,9(91,3)	1318,6(156,0)	400,6(51,6)
26		557,7(59,1)		398,7(61,3)
27		759,8(99,9)		451,1(61,8)
29		911,1(133,6)		572,5(85,2)
33		1150,9(100,9)		974,9(150,9)
36		1426,7(113,5)		1284,3(229,8)

Таблица 32. Комбинированный статистический анализ для дней 0-19

Среднее значение AUC Группа 1= 8,591087
Среднее значение AUC Группа 2= 3,361968
Среднее значение AUC Группа 3= 4,831409
Среднее значение AUC Группа 4= 1,048925
<i>In vivo</i> показатель синергии: 16,8387840902352
p-значение: 0,154667715778082

Пример 17: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и гемцитабином в модели НМРЛ PDX

[00375] Гемцитабин (в/б 20 мг/кг в дни 1, 4, 7, 10 и 13) объединяли с соединением формулы (I) (п/о 100 мг/кг в течение 38 дней) в модели МТАР-дефицитного НМРЛ PDX (LU1513) для оценки полезного противоопухолевого эффекта сочетания. В день 11 эксперимента одно из 12 животных в группе комбинированной терапии потеряло 28% от его массы тела до проведения лечения. Данное сочетание плохо переносилось (в данной модели), вследствие чего невозможно было оценить противоопухолевый полезный эффект сочетания.

Пример 18: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и гемцитабином в модели НМРЛ PDX (LU6431)

[00376] Гемцитабин (вводимый в/б по схеме Q3D) объединяли с соединением формулы I (вводимым в дозе 100 мг/кг п/о по схеме QD) в модели МТАР-дефицитного НМРЛ PDX (LU6431) для оценки полезного противоопухолевого эффекта сочетания. Каждая группа включала 12 самок мышей BALB/c со сформировавшимися опухолями LU6431. Группа 1 получала растворитель, группа 2 получала соединение формулы (I), группа 3 получала гемцитабин (20,0 мг/кг) и группа 4 получала сочетание гемцитабина (20,0 мг/кг) и соединения формулы (I). Все варианты лечения переносились хорошо. Ингибирование роста опухоли (методология описана в настоящем документе) рассчитывали в день 22, и соединение формулы (I) (группа 2) приводило к ИРО=45%, гемцитабин 20 мг/кг (группа 3) приводил к ИРО=43% и сочетание соединения формулы (I) + гемцитабин 20,0 мг/кг (группа 4) приводило к ИРО=69%. Кривые роста опухолей представлены на Фигуре 21. Полезный эффект сочетания (методология описана в настоящем документе) оценивали в день 22.

Пример 19: Комбинированная терапия соединением формулы (I) и паклитакселом в модели НМРЛ PDX

[00377] Паклитаксел (в/б 15 мг/кг в дни 1, 8, 15 и 38) объединяли с соединением формулы (I) (п/о 100 мг/кг в течение 38 дней) в модели МТАР-дефицитного НМРЛ PDX (LU1513) для оценки полезного противоопухолевого эффекта сочетания. Было обнаружено, что модель LU1513 является устойчивой к паклитакселу, с ИРО=-6%. В соответствии с данным наблюдением, ИРО при использовании соединения формулы (I) в качестве единственного средства (74%) было аналогичным ИРО при использовании сочетания (78%). Устойчивость к паклитакселу в данной модели не позволила оценить противоопухолевый полезный эффект сочетания.

[00378] Все публикации, патенты и патентные заявки, цитированные в настоящей спецификации, включены в настоящий документ посредством ссылки для идей, ради которых такие цитаты были использованы.

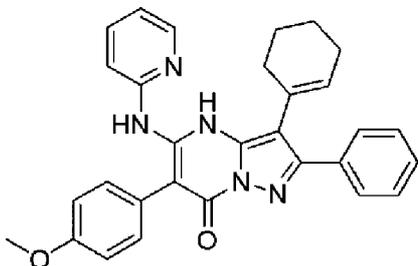
[00379] Конкретные наблюдаемые ответы на лечение могут варьироваться в зависимости от введения конкретного активного соединения или выбранного сочетания, а также от типа препарата и используемого способа введения, и такие ожидаемые вариации или различия в результатах предусмотрены согласно практике настоящего изобретения.

[00380] Хотя конкретные варианты осуществления настоящего изобретения проиллюстрированы и описаны подробно в настоящем документе, изобретение не ограничено ими. Приведенное выше подробное описание является иллюстративным для настоящего изобретения и не должно восприниматься как ограничивающее изобретение каким-либо образом. Модификации будут очевидны для специалистов в данной области, и все модификации без отклонения от сущности изобретения должны входить в объем прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения МТАР-дефицитного немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) у пациента, который нуждается в этом, включающий введение:

(а) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):

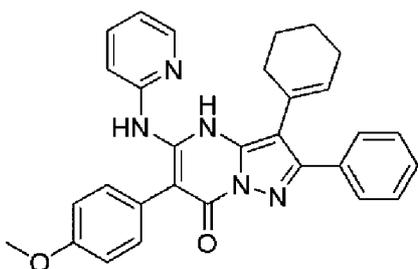


Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и

(б) терапевтически эффективного количества таксана.

2. Соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, для применения в лечении МТАР-дефицитного немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) в сочетании с терапевтически эффективным количеством таксана:



Формула (I).

3. Способ по п. 1 или соединение по п. 2, где таксан представляет собой доцетаксел, паклитаксел или наб-паклитаксел.

4. Способ или соединение по п. 3, где таксан представляет собой доцетаксел.

5. Способ по п. 1, 3 или 4, дополнительно включающий введение одного или более дополнительных терапевтических средств.

6. Соединение по любому из пунктов 2-4, где сочетание дополнительно включает одно или более дополнительных терапевтических средств.

7. Способ по п. 5 или соединение по п. 6, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое средство на основе платины.

8. Способ или соединение по п. 7, где химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, недаплатин, триплатина тетрагидрат, фенантриплатин, пикоплатин или сатраплатин.

9. Способ или соединение по п. 7 или 8, где химиотерапевтическое средство на основе платины представляет собой карбоплатин или цисплатин.

10. Способ по любому из пунктов 1, 3-5 или 7-9, где пациент неспособен отвечать, перестал отвечать на лечение или испытывает прогрессирование заболевания после одной или более предшествующих линий терапии для лечения МТАР-дефицитного НМРЛ.

11. Способ или соединение по п. 10, где соединение формулы (I), или его

фармацевтически приемлемая соль, представляет собой вторую линию терапии для лечения МТАР-дефицитного НМРЛ.

12. Способ или соединение по п. 10, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой третью линию терапии для лечения МТАР-дефицитного НМРЛ.

13. Способ или соединение по любому из пунктов 1-12, где МТАР-дефицитный НМРЛ диагностирован впервые.

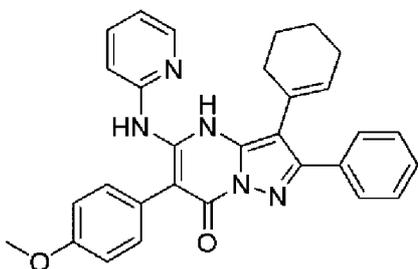
14. Способ или соединение по любому из пунктов 1-13, где доза соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, составляет от примерно 20 мг до примерно 800 мг.

15. Способ или соединение по любому из пунктов 1-14, где дозирование соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, представляет собой дозирование один раз или два раза в сутки.

16. Способ или соединение по любому из пунктов 1-15, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, вводят перорально или формулируют для перорального введения.

17. Способ лечения МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы у пациента, который нуждается в этом, включающий введение:

(а) терапевтически эффективного количества соединения формулы (I):

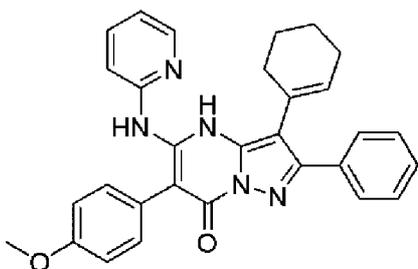


Формула (I)

или его фармацевтически приемлемой соли и

(b) терапевтически эффективного количества таксана.

18. Соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, для применения в лечении МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы в сочетании с терапевтически эффективным количеством таксана:



Формула (I).

19. Способ по п. 17 или соединение по п. 18, где таксан представляет собой паклитаксел, наб-паклитаксел или доцетаксел.

20. Способ или соединение по п. 19, где таксан представляет собой наб-паклитаксел.

21. Способ по любому из пунктов 17, 19 или 20, дополнительно включающий введение терапевтически эффективного количества ингибитора синтеза ДНК.

22. Соединение по любому из пунктов 18-20, где сочетание дополнительно включает терапевтически эффективное количество ингибитора синтеза ДНК.

23. Способ или соединение по п. 21 или 22, где ингибитор синтеза ДНК представляет собой гемцитабин.

24. Способ по любому из пунктов 17, 19-21 или 23, где пациент неспособен отвечать, перестал отвечать на лечение или испытывает прогрессирование заболевания после одной или более предшествующих линий терапии для лечения МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы.

25. Способ или соединение по п. 24, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой вторую линию терапии для лечения МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы.

26. Способ или соединение по п. 25, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, представляет собой третью линию терапии для лечения МТАР-дефицитного рака поджелудочной железы.

27. Способ или соединение по любому из пунктов 17-26, где МТАР-дефицитный рак поджелудочной железы диагностирован впервые.

28. Способ или соединение по любому из пунктов 17-27, где доза соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, составляет от примерно 20 мг до примерно 800 мг.

29. Способ или соединение по любому из пунктов 17-28, где дозирование соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, выбрано из дозирования один раз или два раза в сутки.

30. Способ или соединение по любому из пунктов 17-29, где введение соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, является пероральным, или соединение сформулировано для перорального введения.

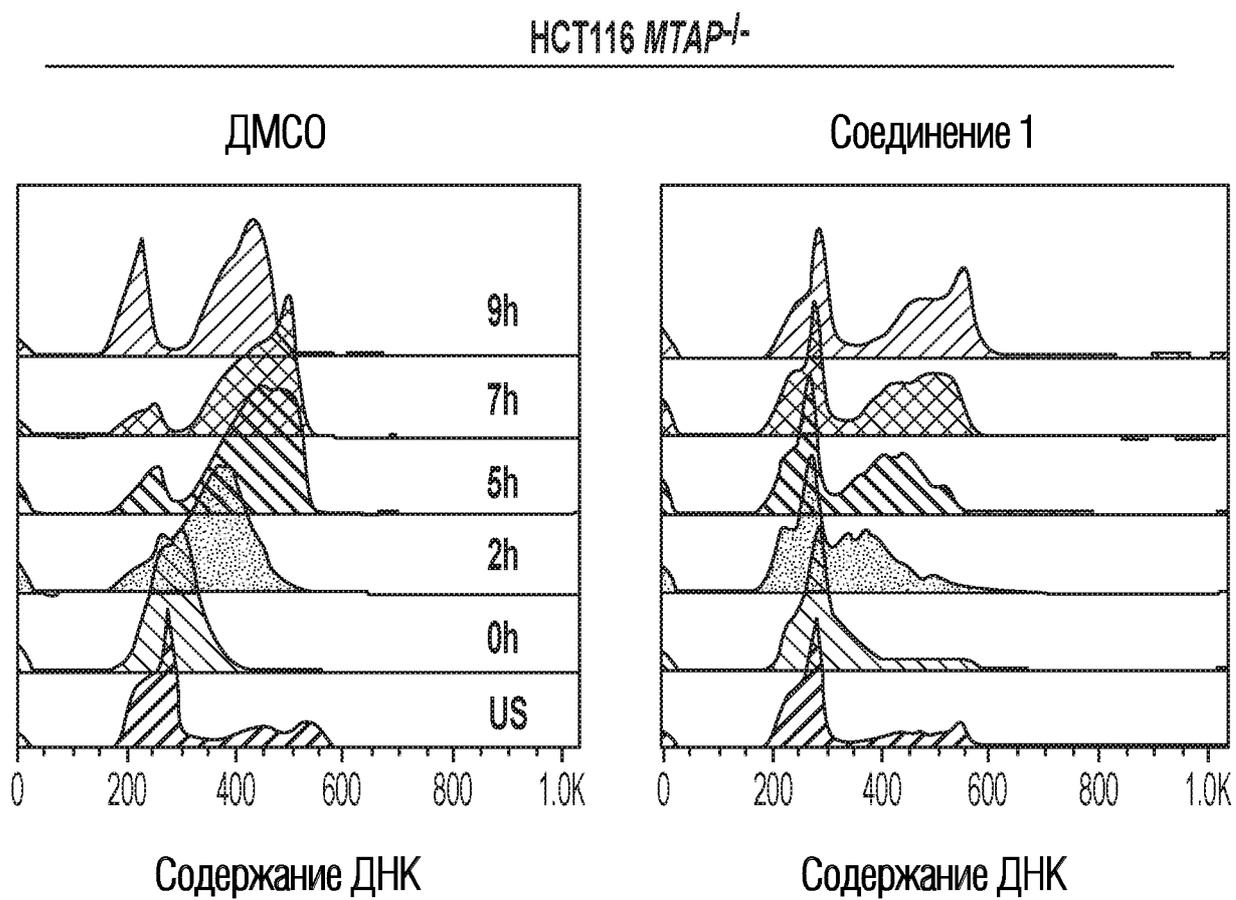
31. Способ или соединение по любому из пунктов 17-27, где рак поджелудочной железы представляет собой аденокарциному протоков поджелудочной железы (АППЖ).

32. Способ или соединение по любому из пунктов 17-31, где рак поджелудочной железы является нерезецированным, местно распространенным или метастатическим.

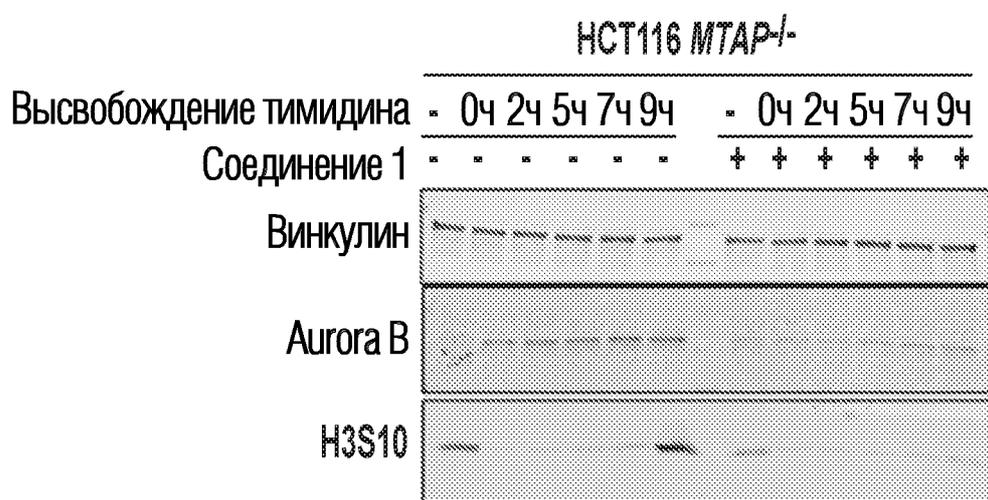
33. Способ по любому из пунктов 1, 3-5, 7-17, 19-21 или 23-32, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и таксан вводят одновременно.

34. Способ по любому из пунктов 1, 3-5, 7-17, 19-21 или 23-32, где соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемую соль, и таксан вводят последовательно.

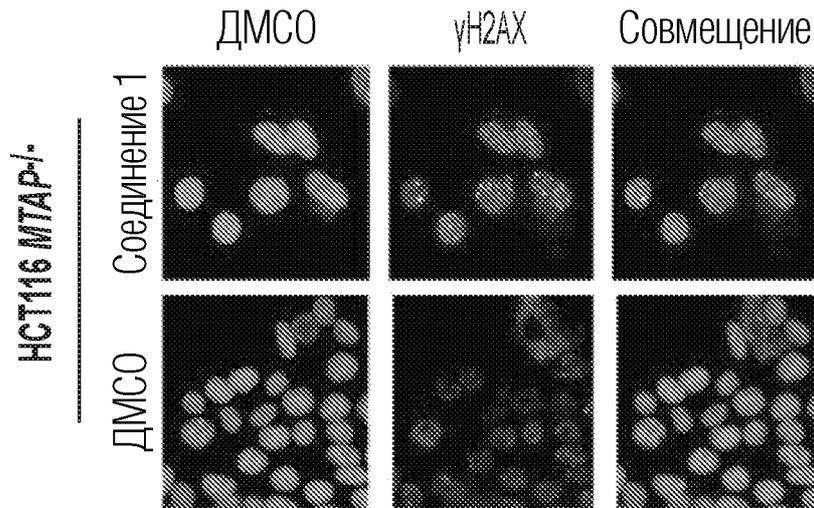
По доверенности



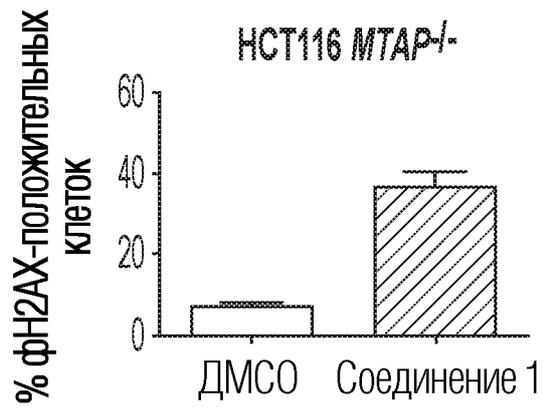
ФИГ. 1



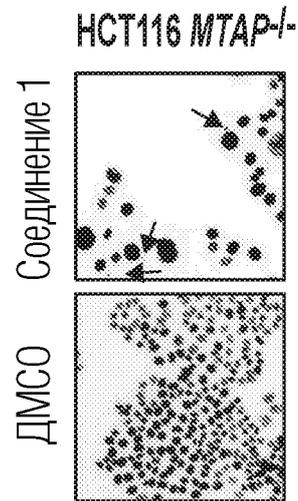
ФИГ. 2



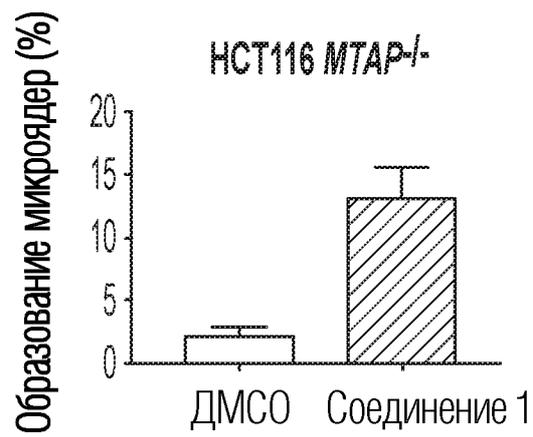
ФИГ. 3А



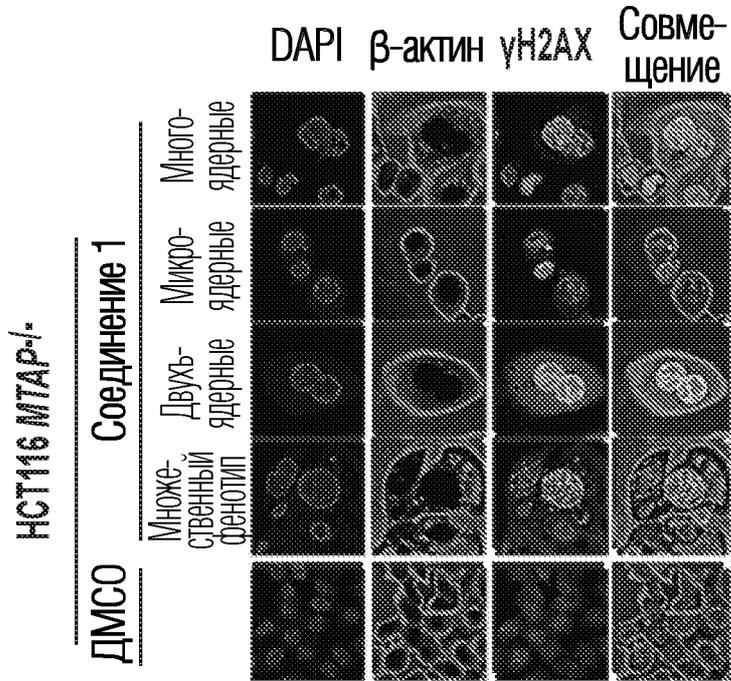
ФИГ. 3В



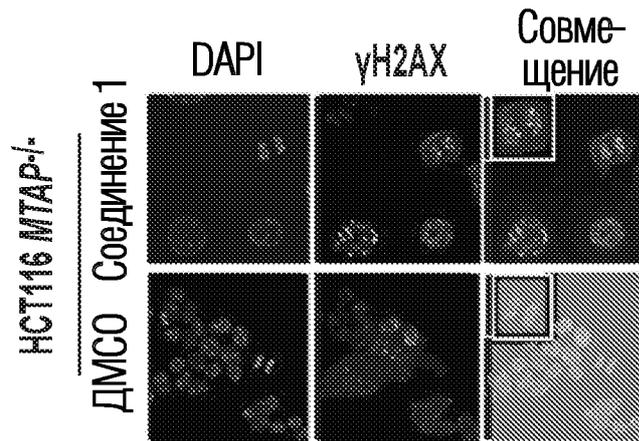
ФИГ. 4А



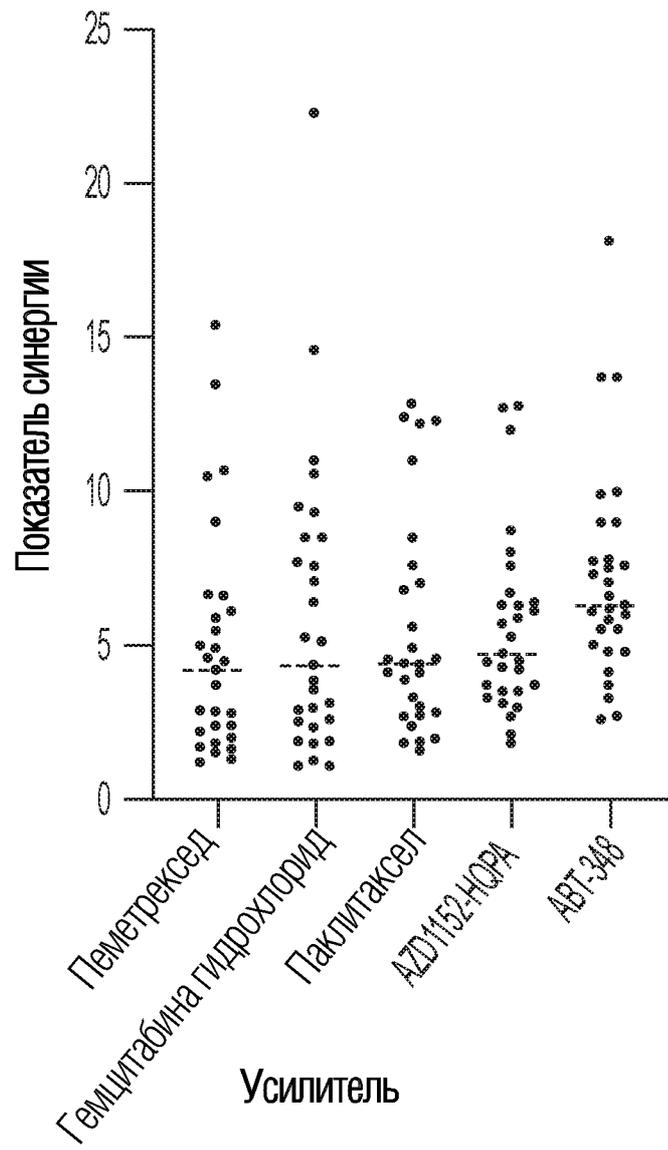
ФИГ. 4В



ФИГ. 5А



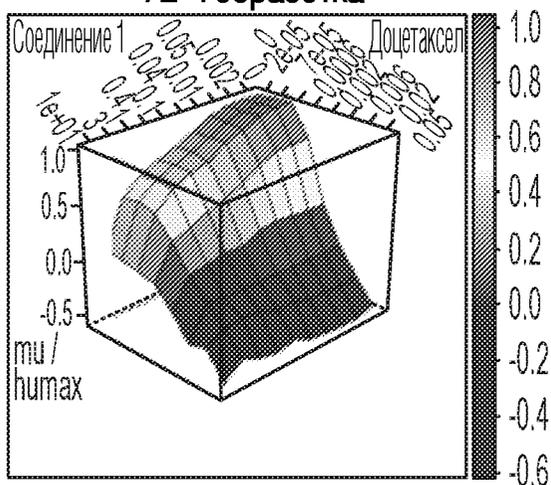
ФИГ. 5В



ФИГ. 6

НСТ116 МТАР-/-

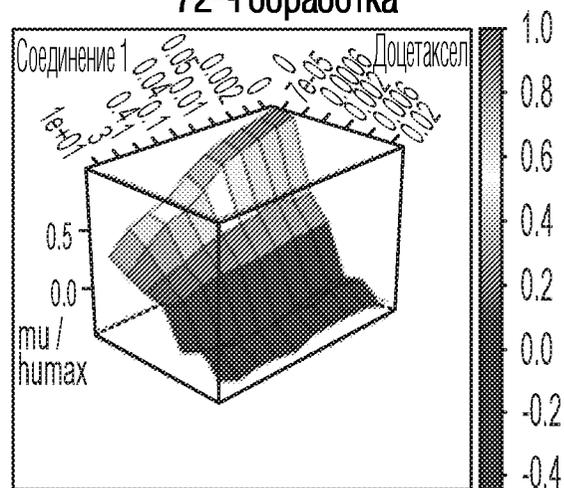
Соединение 1+Доцетаксел
72-ч обработка



Соединение 1 10 мкМ Мин CI = 0,5334
Доцетаксел 0,05 мкМ

Н2122 + МТАРi

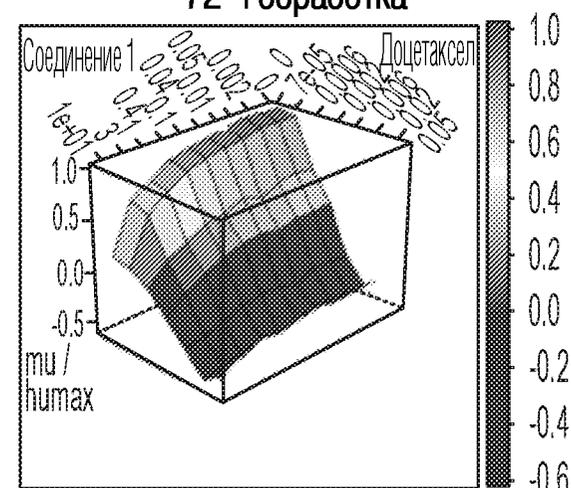
Соединение 1+Доцетаксел
72-ч обработка



Соединение 1 10 мкМ Мин CI < 0,6224
Доцетаксел 0,05 мкМ

КР4

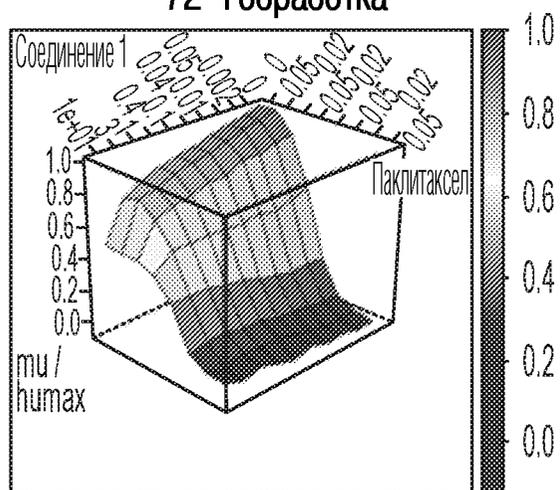
Соединение 1+Доцетаксел
72-ч обработка



Соединение 1 10 мкМ Мин CI = 0,7121
Доцетаксел 0,05 мкМ

ФИГ. 7А

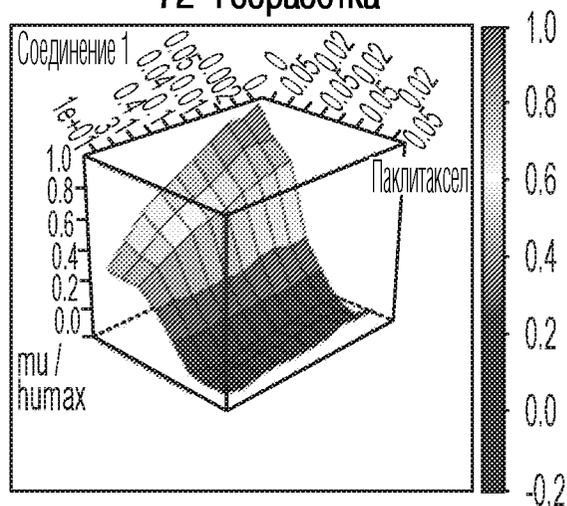
НСТ116 МТАРi-
Соединение 1+Паклитаксел
72-ч обработка



Соединение 1 10 мкМ **Мин CI = 0,5334**

Паклитаксел 0,5 мкМ

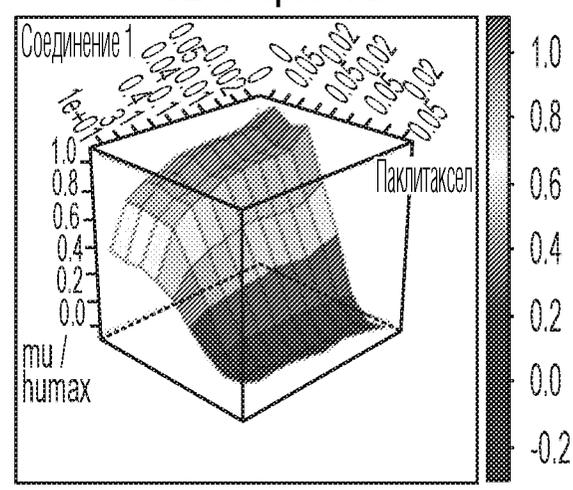
Н2122 + МТАРi
Соединение 1+Паклитаксел
72-ч обработка



Соединение 1 10 мкМ **Мин CI < 0,6832**

Паклитаксел 0,5 мкМ

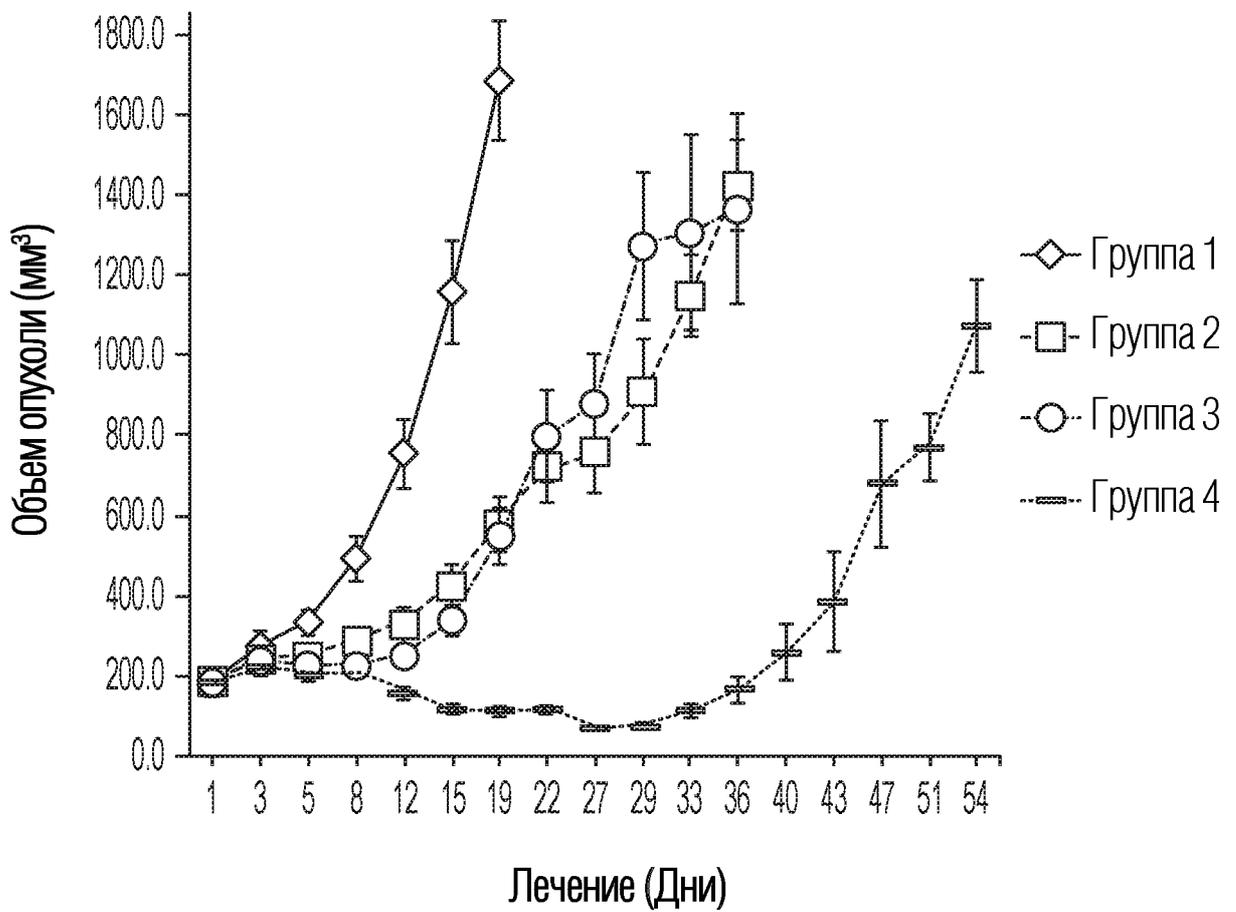
КР4
Соединение 1+Паклитаксел
72-ч обработка



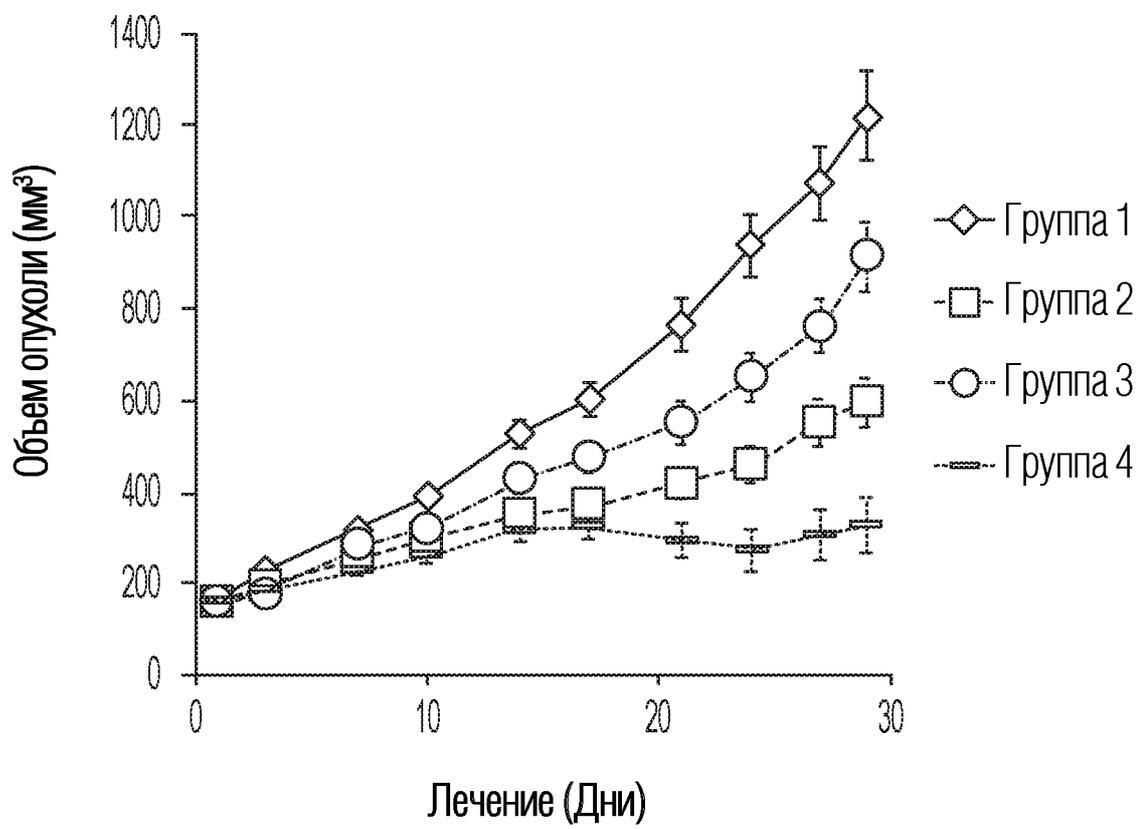
Соединение 1 10 мкМ **Мин CI = 0,66**

Паклитаксел 0,5 мкМ

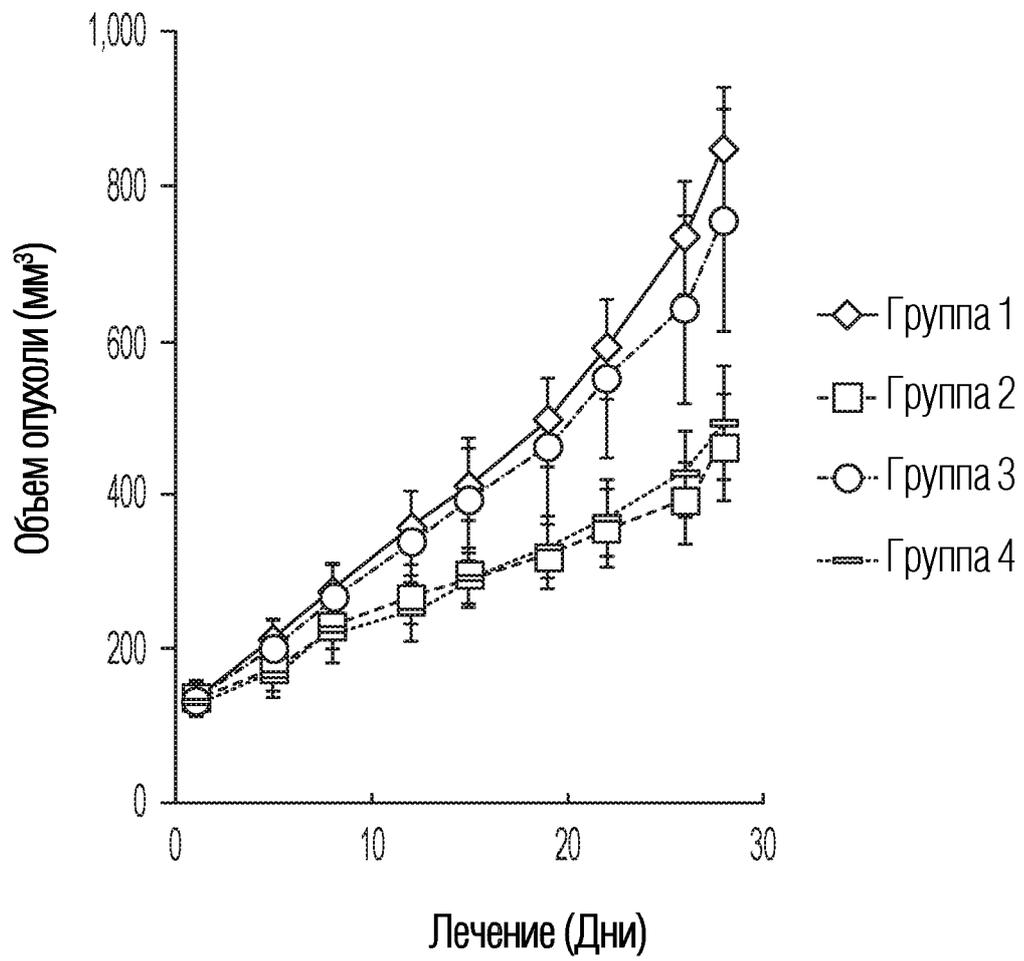
ФИГ. 7В



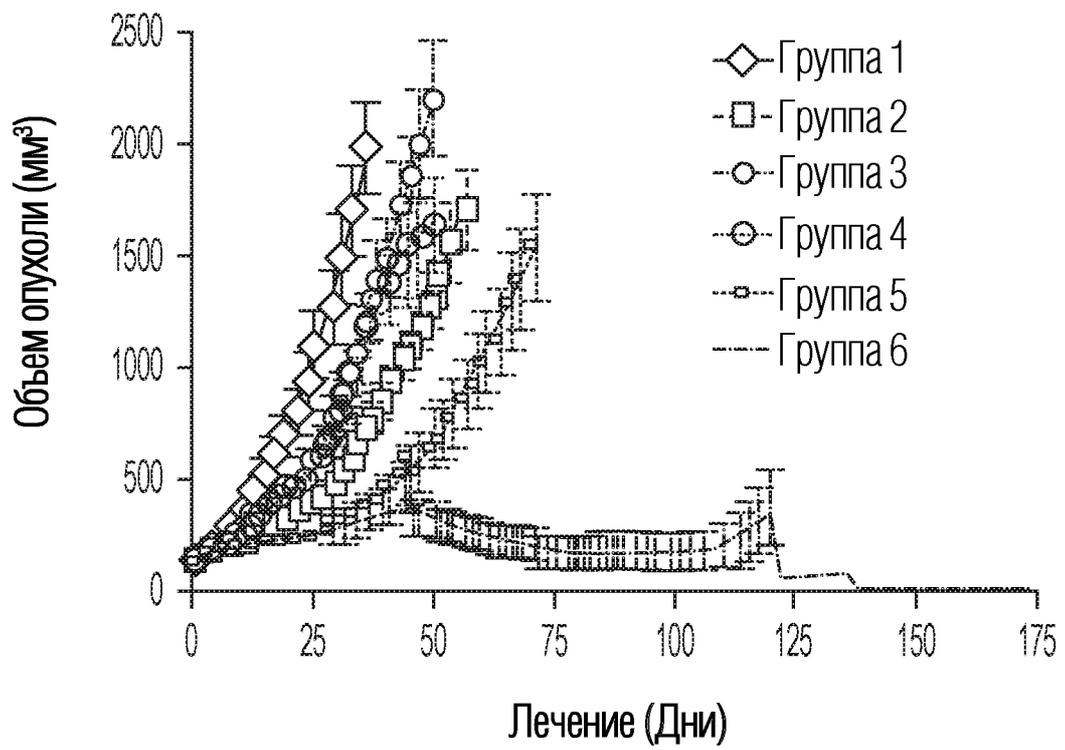
ФИГ. 8



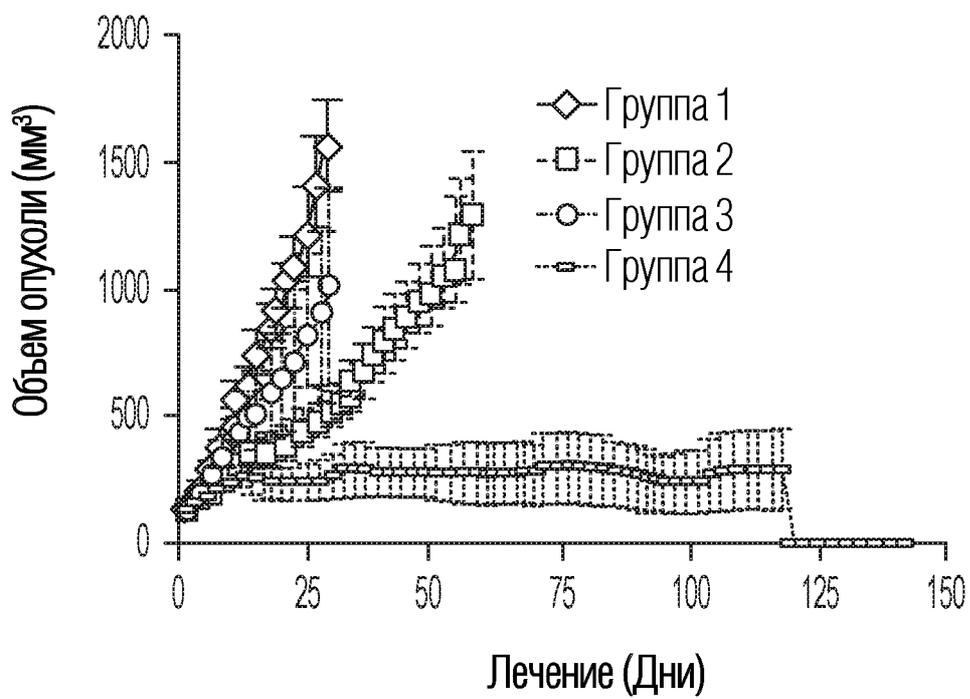
ФИГ. 9



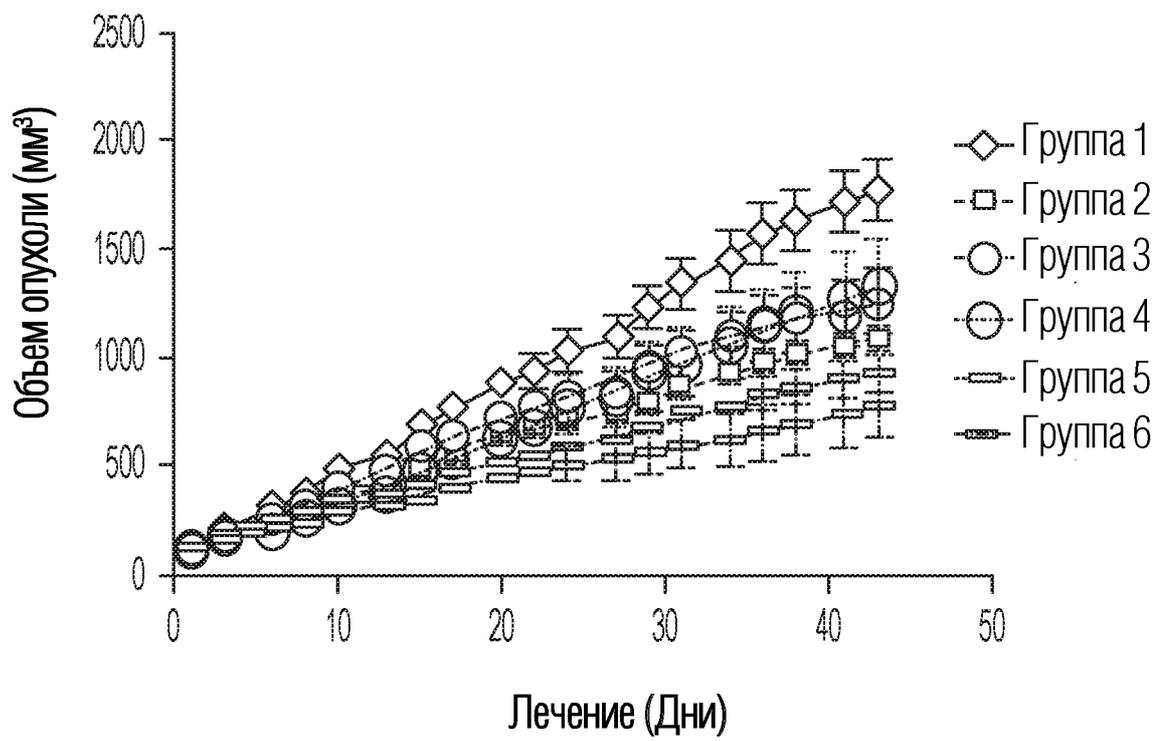
ФИГ. 10



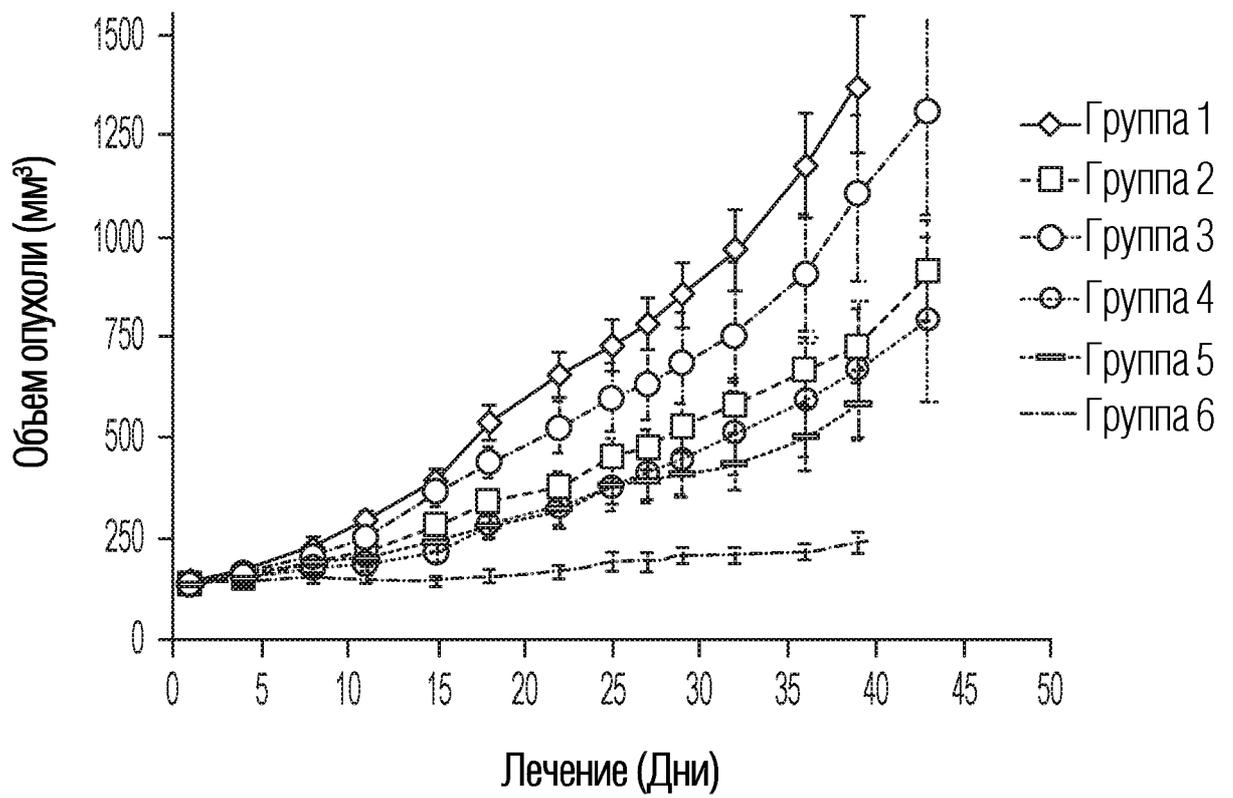
ФИГ. 11



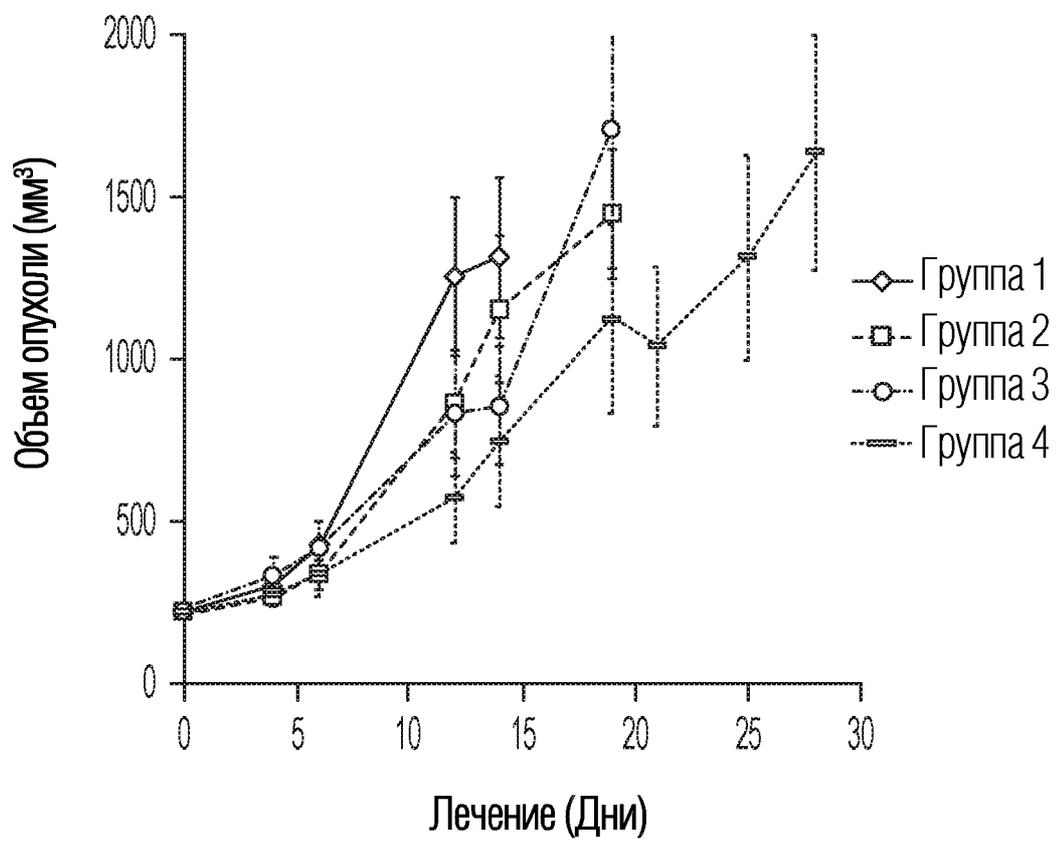
ФИГ. 12



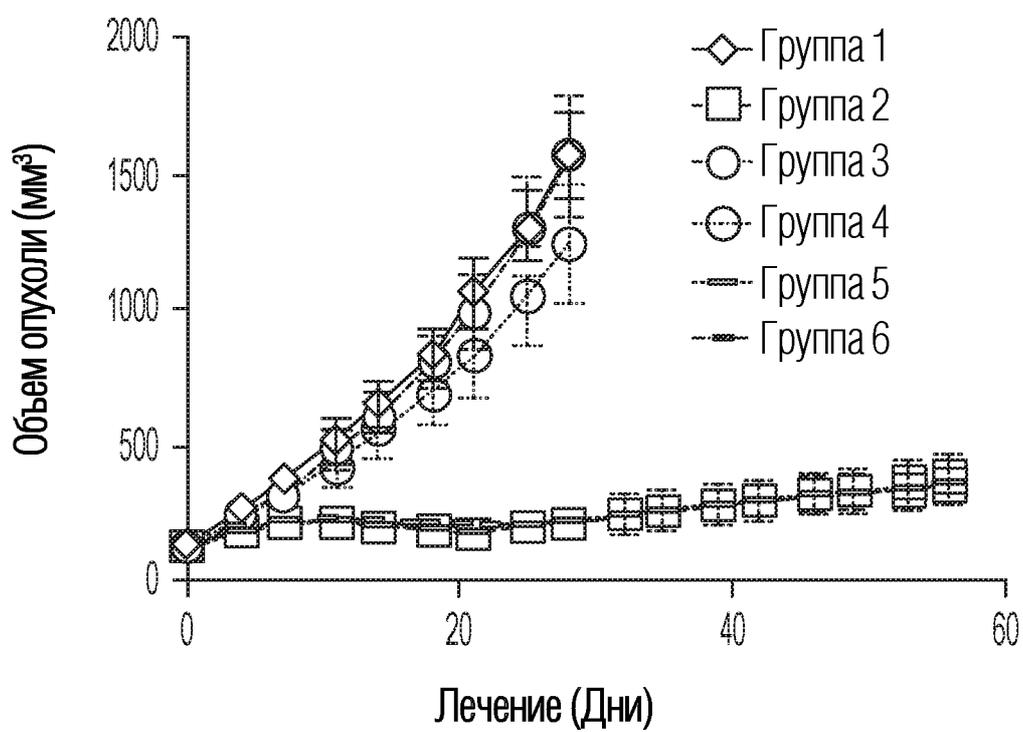
ФИГ. 13



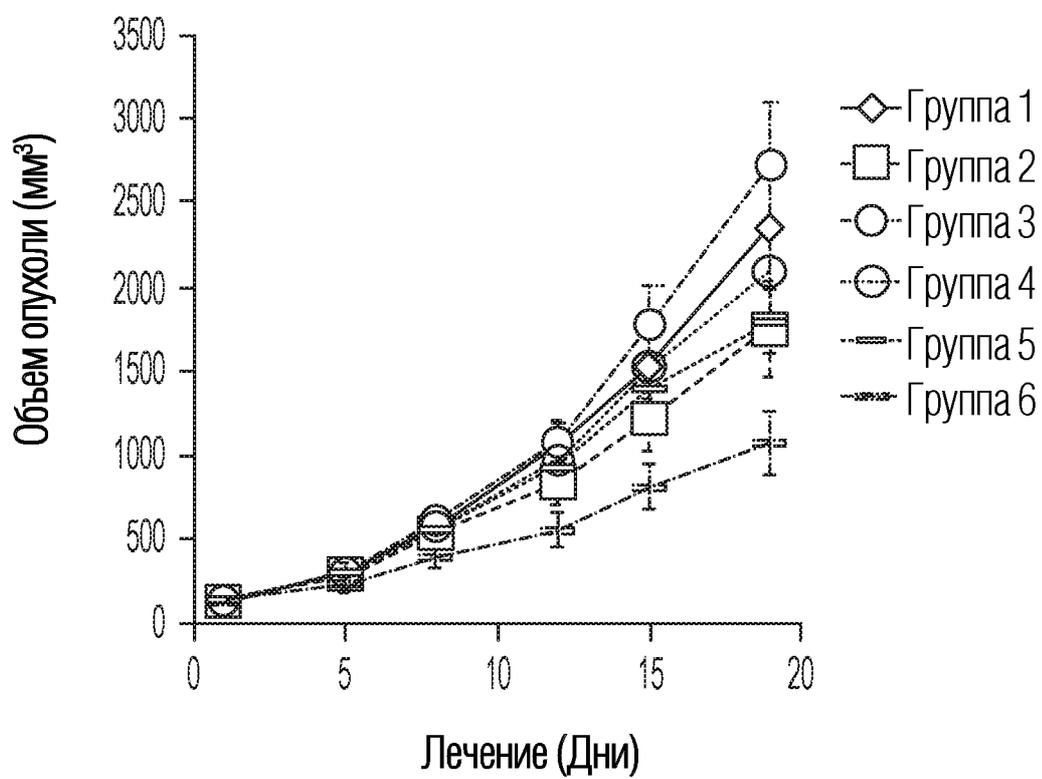
ФИГ. 14



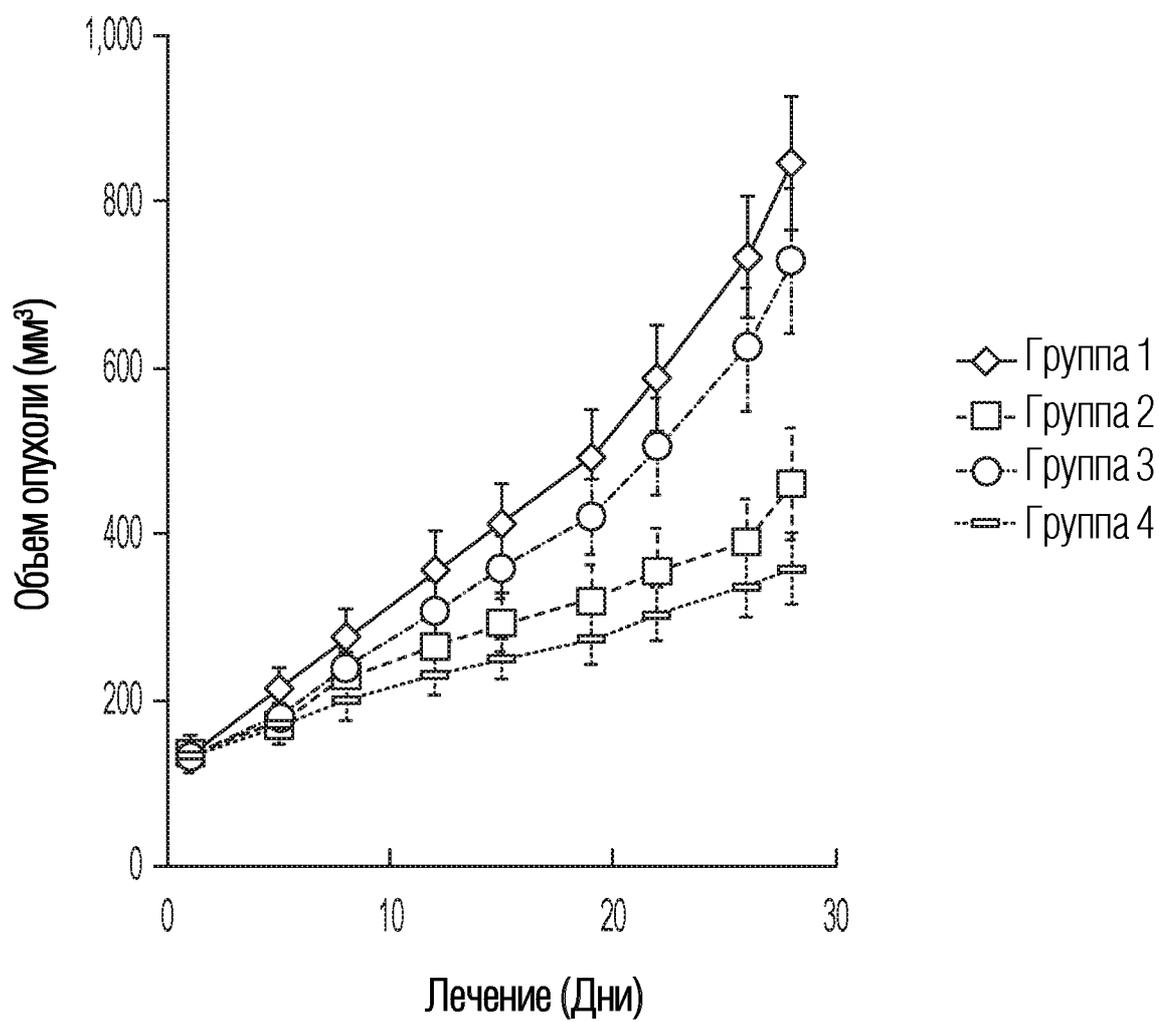
ФИГ. 15



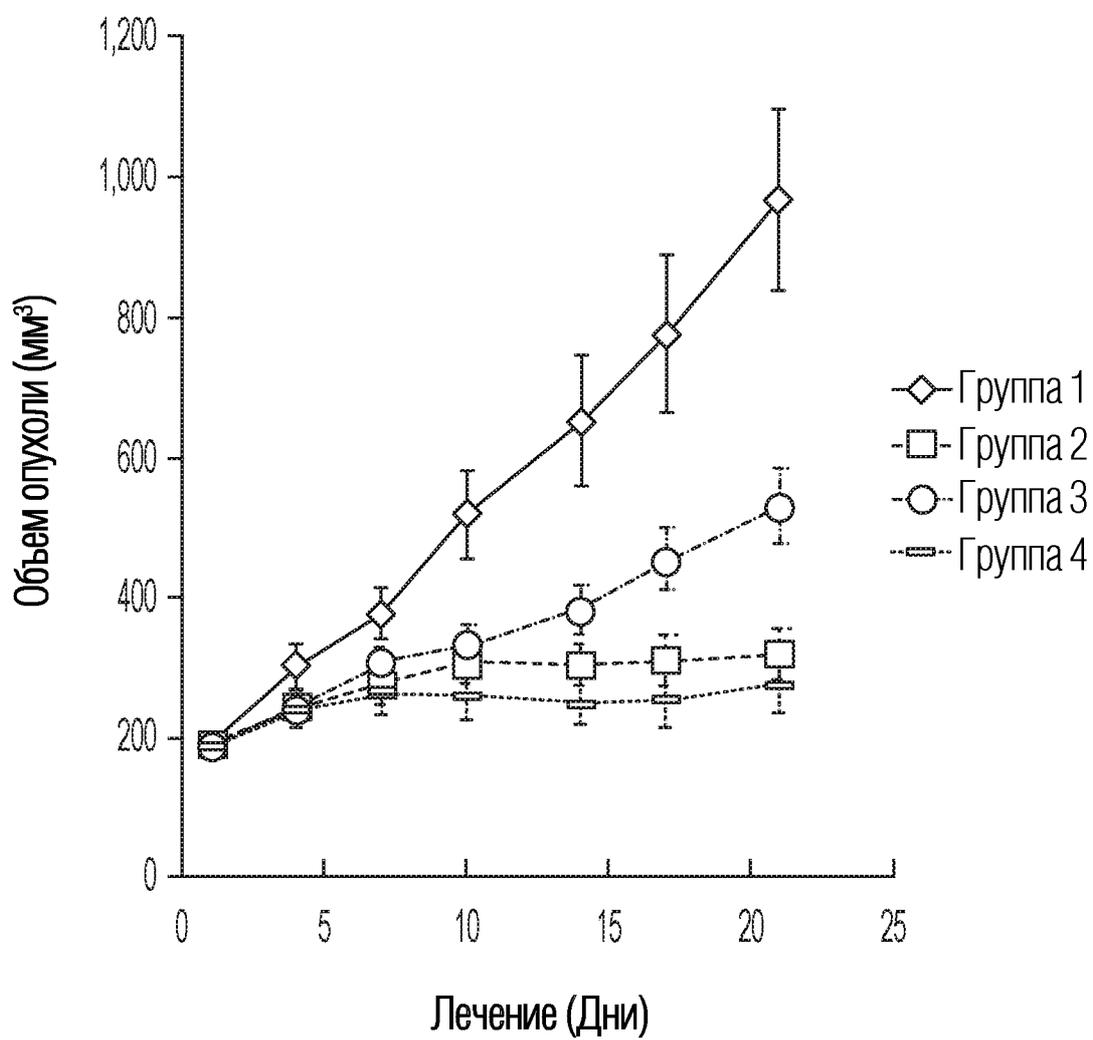
ФИГ. 16



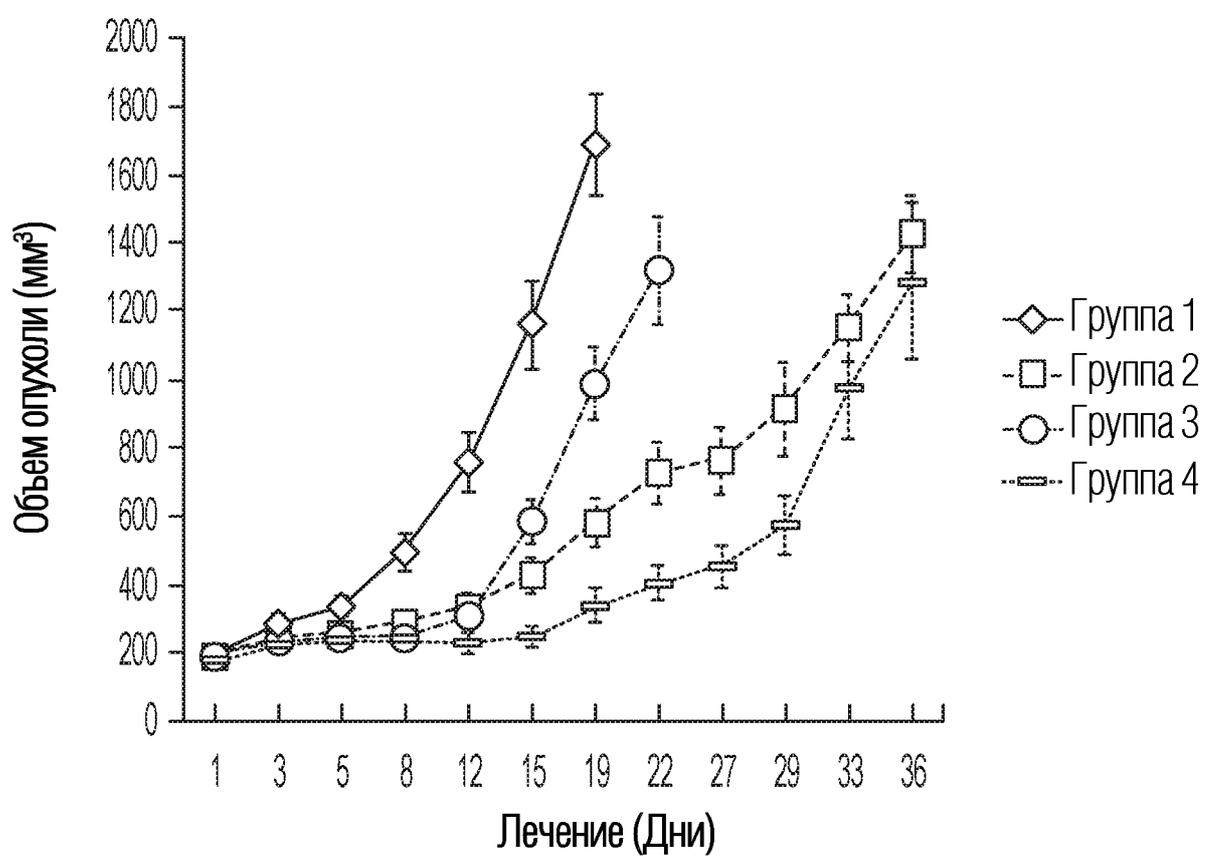
ФИГ. 17



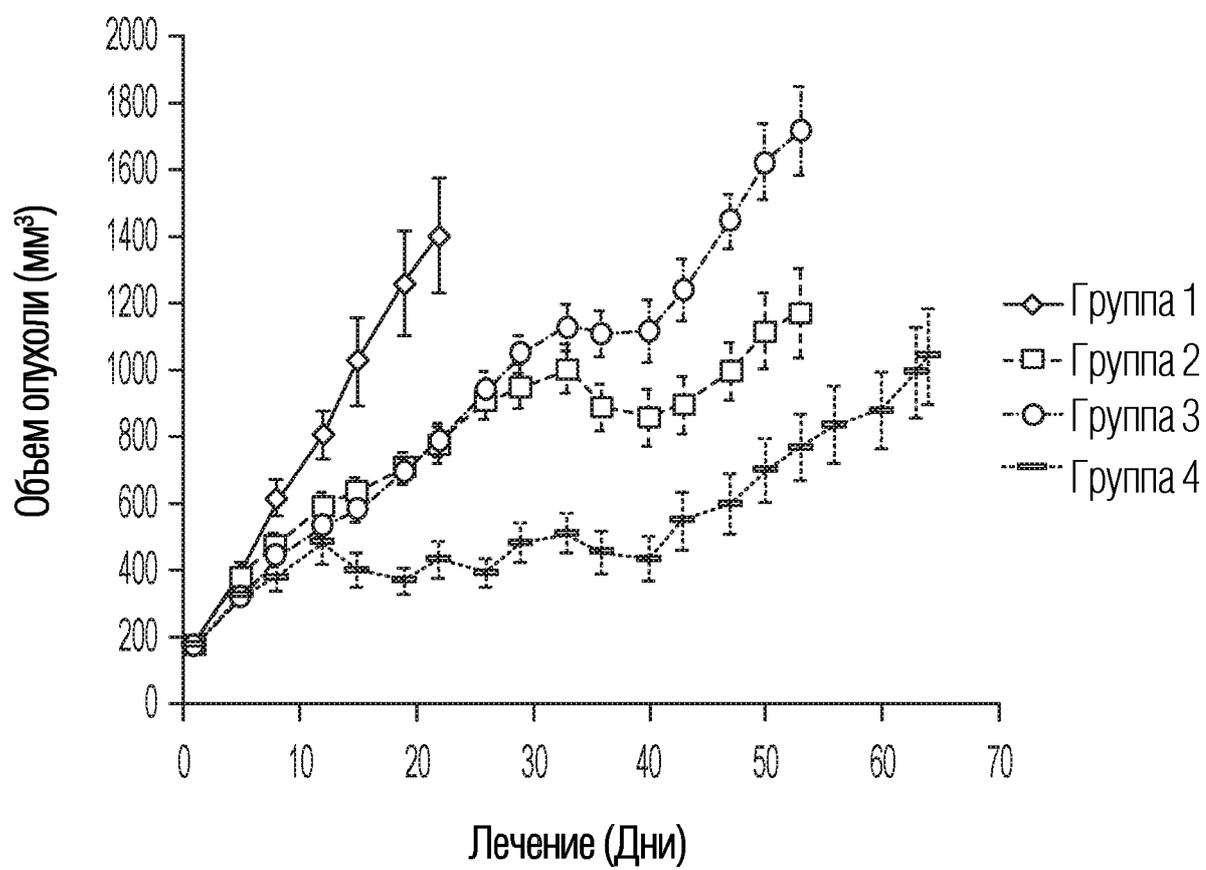
ФИГ. 18



ФИГ. 19



ФИГ. 20



ФИГ. 21