



**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2022.01.24**

**(21)** Номер заявки  
**201491695**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2013.03.14**

**(51)** Int. Cl. **A61K 31/4985** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

**(54) ЛЕЧЕНИЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ТРОЙНЫМ НЕГАТИВНЫМ ФЕНОТИПОМ ИНГИБИТОРАМИ TOR-КИНАЗЫ**

**(31)** 61/611,374; 61/715,331

**(32)** 2012.03.15; 2012.10.18

**(33)** US

**(43)** 2015.02.27

**(86)** PCT/US2013/031185

**(87)** WO 2013/138553 2013.09.19

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**СИГНАЛ ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,  
ЭлЭлСи (US)**

**(72)** Изобретатель:  
**Сюй Шуйчань, Хедж Кристен Мей,  
Рэймон Хитер, Нарла Рама К. (US)**

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

**(56)** DEY N ET AL: "Preclinical efficacy of a dual PI3K-mTOR inhibitor, BEZ235 in triple negative breast cancer", EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, vol. 47, no. Suppl. 4, October 2011 (2011-10), page S17, XP002696926, & 5TH EUROPEAN-ORGANISATION-FOR-RESEARCH-AND-TREATMENT-OF-CANCER (EORTC)/NATIONAL-CANCER-INSTITUTE (NCI) BRUSSELS, BELGIUM; OCTOBER 27-29, 2011 abstract

HONG ZHAO ET AL: "The effect of mTOR inhibition alone or combined with MEK inhibitors on brain metastasis: an in vivo analysis in triple-negative breast cancer models", BREAST CANCER RESEARCH AND TREATMENT, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, BO, vol. 131, no. 2, 11 March 2011 (2011-03-11), pages 425-436, XP019994859, ISSN: 1573-7217, DOI:10.1007/S10549-011-1420-7 abstract

D. J. TOFT ET AL: "Minireview: Basal-Like Breast Cancer: From Molecular Profiles to Targeted Therapies", MOLECULAR ENDOCRINOLOGY, vol. 25, no. 2, 1 February 2011 (2011-02-01), pages 199-211, XP55062401, ISSN: 0888-8809, DOI: 10.1210/me.2010-0164 page 206 - left-hand column

T. LIU ET AL: "Combinatorial Effects of Lapatinib and Rapamycin in Triple-Negative Breast Cancer Cells", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, vol. 10, no. 8, 1 August 2011 (2011-08-01), pages 1460-1469, XP55061528, ISSN: 1535-7163, DOI:10.1158/1535-7163.MCT-10-0925 page 1468

ZENG Q ET AL: "Treating triple-negative breast cancer by a combination of rapamycin and cyclophosphamide: An in vivo bioluminescence imaging study", EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 46, no. 6, 1 April 2010 (2010-04-01), pages 1132-1143, XP026971005, ISSN: 0959-8049 [retrieved on 2010-02-13] abstract

LEHMANN BRIAN D ET AL: "Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies.", THE JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION JUL 2011, vol. 121, no. 7, July 2011 (2011-07), pages 2750-2767, XP002696927, ISSN: 1558-8238 page 2762

WO-A2-2009126926

WO-A1-2010062571

WO-A1-2008051494

WO-A2-2008051493

CESAR G SANCHEZ ET AL: "Preclinical modeling of combined phosphatidylinositol-3-kinase inhibition with endocrine therapy for estrogen receptor-positive breast cancer", BREAST CANCER RESEARCH, CURRENT SCIENCE, LONDON, GB, vol. 13, no. 2, 1 March 2011 (2011-03-01), page R21, XP021097579, ISSN: 1465-5411, DOI: 10.1186/BCR2833 page 17

MACASKILL E J ET AL: "The mammalian target of rapamycin inhibitor everolimus (RAD001) in early breast cancer: results of a pre-operative study", BREAST CANCER RESEARCH AND TREATMENT, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, BO, vol. 128, no. 3, 13 October 2010 (2010-10-13), pages 725-734, XP019923611, ISSN: 1573-7217, DOI: 10.1007/S10549-010-0967-Z page 733

STEPHEN R D JOHNSTON: "Are we missing the mTOR target in breast cancer?", BREAST CANCER RESEARCH AND TREATMENT, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, BO, vol. 128, no. 3, 16 October 2010 (2010-10-16), pages 607-611, XP019923615, ISSN: 1573-7217, DOI:10.1007/S10549-010-1207-2 the whole document

LORI BERK ET AL: "Analysis of the pharmacodynamic activity of the mTOR inhibitor ridaforolimus (AP23573, MK-8669) in a phase 1 clinical trial", CANCER CHEMOTHERAPY AND PHARMACOLOGY, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 69, no. 5, 10 January 2012 (2012-01-10), pages 1369-1377, XP035047366, ISSN: 1432-0843, DOI:10.1007/S00280-011-1813-7 abstract

**(57)** Настоящее изобретение относится к способу лечения и предотвращения рака молочной железы с тройным негативным фенотипом, включающему введение эффективного

количества 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиазино[2,3-b]пиазин-2(1H)-она, являющегося ингибитором TOR-киназы, пациенту, имеющему рак молочной железы с тройным негативным фенотипом.

039396 B1

039396 B1

---

По данной заявке испрашивается приоритет в соответствии с Предварительной Патентной Заявкой США № 61/611374, поданной 15 марта 2012 г., и испрашивается приоритет в соответствии с Предварительной Патентной Заявкой США № 61/715331, поданной 18 октября 2012 г., полное содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки.

### 1. Область техники, к которой относится изобретение

В данной заявке предоставлены способы лечения и предотвращения рака молочной железы с тройным негативным фенотипом (трижды негативного рака молочной железы) или гормон-рецепторного положительного рака молочной железы, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, имеющему рак молочной железы с тройным негативным фенотипом или гормон-рецепторный положительный рак молочной железы.

### 2. Предшествующий уровень техники

Связь между аномальным фосфорилированием белков и причиной или последствиями заболеваний является известной в течение 20 лет. Соответственно протеинкиназы стали очень важной группой мишеней для лекарств. См. Cohen, *Nature*, 1:309-315 (2002). Разнообразные ингибиторы протеинкиназ применялись клинически при лечении широкого разнообразия заболеваний, таких как рак и хронические воспалительные заболевания, включая диабет и инсульт. См. Cohen, *Eur. J. Biochem.*, 268:5001-5010 (2001), *Protein Kinase Inhibitors for the Treatment of Disease: The Promise and the Problems, Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer Berlin Heidelberg, 167 (2005).

Протеинкиназы представляют собой большую и разнообразную семью ферментов, которые катализируют фосфорилирование белков, и играют решающую роль в клеточной сигнализации. Протеинкиназы могут проявлять положительные или отрицательные регуляторные эффекты, в зависимости от их целевого белка. Протеинкиназы вовлечены в специфические сигнальные пути, которые регулируют клеточные функции, такие как, но не ограничиваясь лишь ими, метаболизм, развитие клеточного цикла, клеточная адгезия, сосудистая функция, апоптоз и ангиогенез. Дисфункции клеточной связи ассоциировали с многими заболеваниями, наиболее характерные из которых включают рак и диабет. Регуляции сигнальной трансдукции цитокинами и ассоциация сигнальных молекул с протоонкогенами и генами-онкосупрессорами хорошо представлена документально. Аналогично, была продемонстрирована связь между диабетом и родственными состояниями и разрегулируемыми уровнями протеинкиназ. См., например, Sridhar et al., *Pharmaceutical Research*, 17(11): 1345-1353 (2000). Вирусные инфекции и состояния, относящиеся к ним, также были ассоциированы с регуляцией протеинкиназ. Park et al., *Cell* 101 (7):777-787 (2000).

Поскольку протеинкиназы регулируют почти каждый клеточный процесс, включая метаболизм, клеточную пролиферацию, дифференциацию клеток и выживание клеток, они являются привлекательными мишенями для терапевтического вмешательства при разнообразных болезненных состояниях. Например, управление клеточным циклом и ангиогенез, в которых протеинкиназы играют ключевую роль представляют собой клеточные процессы, ассоциированные с многочисленными болезненными состояниями, такими как, но не ограничиваясь лишь ими, рак, воспалительные заболевания, аномальный ангиогенез и заболевания, относящиеся к ним, атеросклероз, дегенерация желтого пятна, диабет, ожирение и боль.

Протеинкиназы стали привлекательными мишенями для лечения раковых заболеваний. Fabbro et al., *Pharmacology & Therapeutics* 93:79-98 (2002). Предполагают, что вовлечение протеинкиназ в развитие злокачественных новообразований у людей может происходить посредством:

- (1) геномных перегруппировок (например, BCR-ABL при хронической миелогенной лейкемии),
- (2) мутаций, ведущих к конститутивно активной киназной активности, как при острой миелогенной лейкемии и желудочно-кишечных опухолях,
- (3) разрегулиции киназной активности при активации онкогенов или потере опухолесупрессорных функций, таких как при раках с онкогенным RAS,
- (4) разрегулиции киназной активности посредством сверхэкспрессии, как в случае EGFR, и
- (5) эктопической экспрессии факторов роста, которые могут способствовать развитию и поддержанию неопластического фенотипа. Fabbro et al., *Pharmacology & Therapeutics* 93:79-98 (2002).

Выяснение запутанности протеинкиназных путей и сложности взаимосвязи и взаимодействия среди и между разнообразных протеинкиназ и киназных путей придает большое значение важности разработки фармацевтических средств, способных действовать как модуляторы протеинкиназ, регуляторы или ингибиторы, активность которых благоприятно воздействует на множество киназ или множество киназных путей. Соответственно остается потребность в новых модуляторах киназ.

Белок под названием mTOR (мишень рапамицина в клетках млекопитающих), который также называют FRAP, RAFT1 или RAPT1, представляет собой Ser/Thr протеинкиназу из 2549 аминокислот, для которого было показано, что он является одним из наиболее решающих белков в пути mTOR/PKB/Akt, который регулирует клеточный рост и пролиферацию. Georgakis and Younes *Expert Rev. Anticancer Ther.* 6(1): 131-140 (2006). mTOR существует внутри двух комплексов, mTORC1 и mTORC2. В то время как mTORC1 является чувствительным к аналогу рапамицина (таким как темсиролimus или эверолимус), mTORC2 является в значительной степени рапамицин-нечувствительным. Примечательно, что рапамицин не является ингибитором TOR-киназы. Несколько ингибиторов mTOR прошли оценку или оцениваются

в клинических испытаниях для лечения рака. Темсиролимус был разрешен для применения для почечно-клеточной карциномы в 2007 г., а сиролимус был разрешен в 1999 г. для профилактики отторжения почечного трансплантата. Эверолимус был разрешен в 2009 г. для пациентов с прогрессирующей почечно-клеточной карциномой в качестве ингибитора рецептора сосудистого эндотелиального фактора роста, в 2010 г. для пациентов с субэпендимальной гигантоклеточной астроцитомой (SEGA), ассоциированной с туберозным склерозом (TS), которым требовалось лечение, но которые не являлись кандидатами для хирургической резекции, и в 2011 г. для прогрессирующих нейроэндокринных опухолей панкреатического происхождения (PNET) для пациентов с неоперабельным, местнораспространенным или метастазирующим заболеванием. Остается потребность в дополнительных ингибиторах TOR-киназы.

Цитирование или идентификация любой ссылки в Разделе 2 данной заявки не должны рассматриваться как допущение, что ссылка является предшествующим уровнем техники для настоящей заявки.

### 3. Краткое изложение сущности изобретения

Здесь предоставлены способы лечения и предотвращения рака молочной железы с тройным негативным фенотипом, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, имеющему рак молочной железы с тройным негативным фенотипом, где пациенту вводят каждый день от 8 до 90 мг/день ингибитора TOR-киназы или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера.

В некоторых вариантах осуществления, здесь предоставлены способы улучшения критериев оценки ответа при солидных опухолях (RECIST 1.1) пациента, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, имеющему рак молочной железы с тройным негативным фенотипом, где пациенту вводят каждый день от 8 до 90 мг/день ингибитора TOR-киназы или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера.

Ингибитор TOR-киназы представляет собой 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиазин-2(1H)-он или его фармацевтически приемлемую соль, стереоизомер или таутомер.

Настоящие варианты осуществления могут быть поняты более полно посредством ссылки на подробное описание и примеры, которые предназначены для представления в качестве примеров, неограничивающих варианты осуществления.

### 4. Подробное описание

#### 4.1. Определения.

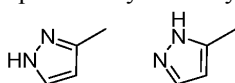
Как используют здесь, термин "фармацевтически приемлемые соль(соли)" относится к соли, полученной из фармацевтически приемлемых нетоксичной кислоты или основания, включая неорганическую кислоту и основание и органическую кислоту и основание. Подходящие фармацевтически приемлемые основно-аддитивные соли ингибитора TOR-киназы включают, но не ограничены лишь ими, соли металлов, полученные из алюминия, кальция, лития, магния, калия, натрия и цинка, или органические соли, полученные из лизина, N,N'-добензилэтилендиамин, хлорпрокаина, холина, диэтаноламина, этилендиамина, меглюмина (N-метилглюкамина) и прокаина. Подходящие нетоксичные кислоты включают, но не ограничены лишь ими, неорганические и органические кислоты, такие как уксусная, альгиновая, антралиловая, бензолсульфовая, бензойная, камфорсульфовая, лимонная, этенсульфовая, муравьиная, фумаровая, пироглициновая, галактуронозная, глюконозная, глюкуронозная, глутаминовая, гликолевая, бромистоводородная, хлористоводородная, изэтионовая, молочная, малеиновая, яблочная, миндальная, метансульфовая, муциновая, азотная, памоевая, пантотеновая, фенилуксусная, фосфорная, пропионовая, салициловая, стеариновая, янтарная, сульфаниловая, серная, винная кислота и п-толуолсульфовая кислота. Конкретные нетоксичные кислоты включают хлористоводородную, бромистоводородную, фосфорную, серную и метансульфовую кислоты. Примеры конкретных солей, таким образом, включают гидрохлоридные и мезилатные соли. Другие соли являются хорошо известными в области, см., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18<sup>th</sup> eds., Mack Publishing, Easton PA (1990) или Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19<sup>th</sup> eds., Mack Publishing, Easton PA (1995).

Как используют здесь, и если не указано иным образом, термин "стереоизомер" или "стереоизомерно чистый" означает один стереоизомер ингибитора TOR-киназы, который, по существу, не содержит других стереоизомеров этого соединения. Например, стереоизомерно чистое соединение, имеющее один хиральный центр, не будет, по существу, содержать противоположный энантиомер соединения. Стереоизомерно чистое соединение, имеющее два хиральных центра, не будет, по существу, содержать другие диастереомеры соединения. Типичное стереоизомерно чистое соединение содержит более чем приблизительно 80 мас.%, одного стереоизомера соединения и менее чем приблизительно 20 мас.%, других стереоизомеров соединения, более чем приблизительно 90 мас.% одного стереоизомера соединения и менее чем приблизительно 10 мас.% других стереоизомеров соединения, более чем приблизительно 95 мас.% одного стереоизомера соединения и менее чем приблизительно 5 мас.% других стереоизомеров соединения, или более чем приблизительно 97 мас.% одного стереоизомера соединения и менее чем приблизительно 3 мас.% других стереоизомеров соединения. Ингибиторы TOR-киназы могут иметь хиральные центры и могут существовать в виде рацематов, индивидуальных энантиомеров или диастереомеров и их смесей. Все такие изомерные формы включены в объем вариантов осуществления, раскрытых здесь,

включая их смеси. Применение стереоизомерно чистых форм таких ингибиторов TOR-киназы, а также применение смесей этих форм охватывается вариантами осуществления, раскрытыми здесь. Например, смеси, содержащие равные или неравные количества энантиомеров конкретного ингибитора TOR-киназы, могут применяться в способах и композициях, раскрытых здесь. Эти изомеры могут быть асимметрически синтезированы или разделены с использованием стандартных методов, таких как хиральные колонки или хиральные разделяющие средства. См., например, Jacques, J., et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley-Interscience, New York, 1981); Wilen, S. H., et al., *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, E. L., *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw-Hill, NY, 1962); и Wilen, S. H., *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972).

Следует также заметить, что ингибитор TOR-киназы могут включать E и Z изомеры или их смеси, и цис- и транс-изомеры или их смесь. В некоторых вариантах осуществления, ингибиторы TOR-киназы выделяют в виде либо цис- или транс-изомера. В других вариантах осуществления, ингибиторы TOR-киназы представляют смесь цис- и транс-изомеров.

"Таутомеры" относится к изомерным формам соединения, которые находятся в равновесии друг с другом. Концентрации изомерных форм будут зависеть от окружения, в котором находится соединение, и могут быть различными в зависимости от, например, того, является ли соединение твердым веществом или находится в органическом или водном растворе. Например, в водном растворе, пиразолы могут проявлять следующие изомерные формы, которые именуются таутомерами друг друга:



Как легко сможет понять квалифицированный специалист в области, широкое разнообразие функциональных групп и других структур может проявлять таутомеризм и все таутомеры ингибитора TOR-киназы находятся в пределах объема притязаний настоящего изобретения.

"Рак молочной железы с тройным негативным фенотипом" как используют здесь, означает рак молочной железы, при котором не экспрессируются гены и/или белок, соответствующие эстрогеновому рецептору (ER)- и прогестероновому рецептору (PR), и при котором не происходит сверхэкспрессия белка Her2/neu.

"Лечение", как используют здесь, означает облегчение протекания, в целом, или отчасти, рака молочной железы с тройным негативным фенотипом или его симптома, или замедление или приостановление дальнейшего развития или ухудшение рака молочной железы с тройным негативным фенотипом или его симптома.

"Предотвращение", как используют здесь, означает предотвращение начала, рецидива или распространения, в целом или отчасти, рака молочной железы с тройным негативным фенотипом или его симптома.

Термин "эффективное количество" в связи с ингибитором TOR-киназы означает количество, способное к облегчению протекания, в целом или отчасти, симптомов, ассоциированных с раком молочной железы с тройным негативным фенотипом или замедление или приостановление дальнейшего развития или ухудшения этих симптомов, или лечение или предотвращение рака молочной железы с тройным негативным фенотипом. Эффективное количество ингибитора TOR-киназы, например, в фармацевтической композиции, может находиться на уровне, который будет оказывать желательный эффект; например, приблизительно от 0,005 мг/кг массы тела субъекта до приблизительно 100 мг/кг массы тела пациента при единичной дозировке как для перорального, так и парентерального введения. Как будет очевидным для специалистов в области, следует ожидать, что эффективное количество ингибитора TOR-киназы, раскрытое здесь, может изменяться в зависимости от тяжести излечиваемого показания.

Термины "пациент" и "субъект", как используют здесь, включают животное, включая, но не ограничиваясь лишь ими, животное, такое как корова, обезьяна, лошадь, овца, свинья, курица, индейка, перепел, кошка, собака, мышь, крыса, кролик или морская свинка, в одном варианте осуществления, млекопитающее, в еще одном варианте осуществления, человека. В одном варианте осуществления, "пациент" или "субъект" представляет собой человека, имеющего рак молочной железы с тройным негативным фенотипом. В одном варианте осуществления пациент является человеком, имеющим гистологически или цитологически-подтвержденный рак молочной железы с тройным негативным фенотипом, включая субъектов, которые проходили курс лечения с использованием стандартной противораковой терапии (или неспособны переносить) стандартную противораковую терапию, или, для которых не существует стандартной противораковой терапии.

В контексте рака молочной железы с тройным негативным фенотипом, лечение можно оценить по ингибированию развития заболевания, ингибированию роста опухоли, уменьшению первичных и/или вторичных опухолей (опухолей), смягчению относящихся к опухоли симптомов, улучшению качества жизни, ингибированию факторов, секретируемых опухолью (включая гормоны, секретируемые опухолью), задержанному появлению первичных и/или вторичных опухолей (опухолей), замедленному развитию первичных и/или вторичных опухолей (опухолей), сниженной частоте появления первичных и/или вторичных опухолей (опухолей), замедленной или сниженной тяжести вторичных эффектов заболевания,

остановленного роста опухоли и/или регрессии опухолей, среди прочего. В некоторых вариантах осуществления, лечение рака молочной железы с тройным негативным фенотипом может быть оценено по ингибированию фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в циркулирующей крови и/или опухолевых клетках и/или биопсийных пробах кожи или опухолевых биопсийных пробах/асpirатах, до, во время и/или после лечения ингибитором TOR-киназы. В других вариантах осуществления, лечение рака молочной железы с тройным негативным фенотипом может быть оценено по ингибированию активности ДНК-зависимой протеинкиназы (ДНК-ПК) в образцах кожи и/или опухолевых биопсийных пробах/асpirатах, таким образом, как посредством оценки количества рДНК-ПК S2056 как биомаркера для путей повреждения ДНК, во время и/или после лечения ингибитором TOR-киназы. В одном варианте осуществления, образец кожи облучают УФ-светом. В высшей степени полное ингибирование именуют здесь как предотвращение или химиопрофилактика. В данном контексте, термин "предотвращение" включает либо предотвращение начала клинически очевидного рака молочной железы с тройным негативным фенотипом вместе, или предотвращение начала доклинически очевидной стадии рака молочной железы с тройным негативным фенотипом. Также подразумевают, что это определение охватывает предотвращение трансформации в малигнизированные клетки или остановку или обращение развития пре-малигнизированных клеток в малигнизированные клетки. Данное включает профилактическое лечение пациентов с риском развития рака молочной железы с тройным негативным фенотипом.

#### 4.2. Краткое описание фигур

Чертеж предоставляет противоопухолевую активность соединения 1 на модели MDA-MB-231 рака молочной железы с тройным негативным фенотипом.

#### 4.3. Ингибиторы tog-киназы.

Соединение, предоставленное здесь, в целом, именуют "ингибитор TOR-киназы". В конкретном варианте осуществления, ингибитор TOR-киназы не включают рапамицин или аналоги рапамицина (рапа-логи).

В одном варианте осуществления ингибитор TOR-киназы включает соединение 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он и его фармацевтически приемлемую соль, стереоизомер и таутомер.

#### 4.4 Способы получения ингибиторов tog-киназы.

Ингибиторы TOR-киназы могут быть получены посредством стандартной, хорошо известной методологии синтеза, см. например, March, J. *Advanced Organic Chemistry; Reactions Mechanisms, and Structure*, 4<sup>th</sup> ed., 1992. Исходные вещества, применимые для получения ингибитора TOR-киназы и промежуточных соединений, следовательно, являются доступными для приобретения или могут быть получены из доступных для приобретения веществ с использованием известных способов синтеза и реагентов.

Конкретные способы получения ингибитора TOR-киназы раскрыты в Патенте США № 7981893, выданном 19 июля 2011 г., включенном здесь посредством ссылки во всей полноте. Конкретные способы получения ингибитора TOR-киназы раскрыты в Патенте США № 7968556, выданном 28 Июня 2011 г., включенном здесь посредством ссылки во всей полноте. Конкретные способы получения ингибитора TOR-киназы раскрыты в Патенте США № 8110578, выданном 7 февраля 2012 г., и Опубликованной Патентной Заявке США № 2011/0137028, поданной 25 октября 2010 г., включенной здесь посредством ссылки во всей полноте.

#### 4.5. Способы применения.

Здесь предоставлены способы лечения и предотвращения рака молочной железы с тройным негативным фенотипом, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, имеющему рак молочной железы с тройным негативным фенотипом. В некоторых вариантах осуществления ингибитор TOR-киназы вводят пациенту, который имеет местнораспространенный, рецидивирующий или метастатический рак молочной железы с тройным негативным фенотипом, не подлежащий радикальной хирургической резекции. В еще одном варианте осуществления, ингибитор TOR-киназы вводят пациенту, который прошел по меньшей мере один предшествующий курс химиотерапии препаратами платины. В нескольких вариантах осуществления, ингибитор TOR-киназы вводят пациенту, у которого опухоль проявляет сверхэкспрессию ДНК-ПК.

В одном варианте осуществления, здесь предоставлены способы лечения и предотвращения рака молочной железы с тройным негативным фенотипом (также известного как TNBC), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, имеющему рак молочной железы с тройным негативным фенотипом.

В нескольких вариантах осуществления, здесь предоставлены способы лечения рака молочной железы с тройным негативным фенотипом, способы, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, имеющему рак молочной железы с тройным негативным фенотипом, где лечение приводит к одному или нескольким результатам из ингибирования развития заболевания, ингибирования роста опухоли, уменьшения первичной опухоли, смягчения относящихся к опухоли симптомов, ингибирования факторов, секретируемых опухолью (включая гормоны, секретируемые опухолью, такие как гормоны, которые способствуют развитию карциноидного синдрома), задержанного по-

явления первичных или вторичных опухолей, замедленного развития первичных или вторичных опухолей, сниженной частоты возникновения первичных или вторичных опухолей, замедленной или сниженной тяжести вторичных эффектов заболевания, остановленного роста опухоли и регрессии опухолей, увеличенного времени до прогрессирования заболевания (ТТР), увеличенной выживаемости без прогрессирования заболевания (PFS), и/или увеличенной Общей Выживаемости (OS), среди прочего.

В одном варианте осуществления, здесь предоставлены способы улучшения Критериев Оценки Ответа Солидных Опухолей (RECIST 1.1) (см. Eisenhauer E.A., Therasse P., Bogaerts J., et al., *New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1)*. *European J. Cancer*, 2009; (45) 228-247) пациента, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR-киназы пациенту, имеющему рак молочной железы с тройным негативным фенотипом.

В нескольких вариантах осуществления, ингибитор TOR-киназы представляет собой соединение, как описано здесь. В одном варианте осуществления, ингибитор TOR-киназы представляет собой соединение 1 (ингибитор TOR-киназы приведенный здесь, имеющий молекулярную формулу  $C_{16}H_{16}N_8O$ ). В одном варианте осуществления, соединение 1 представляет собой 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он.

Ингибитор TOR-киназы, может комбинироваться с лучевой терапией или хирургическим вмешательством. В некоторых вариантах осуществления, ингибитор TOR-киназы вводят пациенту, который проходит курс лучевой терапии, ранее прошел курс лучевой терапии или будет проходить курс лучевой терапии. В некоторых вариантах осуществления, ингибитор TOR-киназы вводят пациенту, у которого проведено удаление опухоли посредством хирургического вмешательства.

Дополнительно здесь предоставлены способы лечения пациентов, которые ранее подвергались лечению рака молочной железы с тройным негативным фенотипом, но являются резистентными к стандартным терапиям, а также тех пациентов, которые ранее не подвергались лечению. Дополнительно здесь предоставлены способы лечения пациентов, которые прошли через хирургическое вмешательство в попытке лечить рассматриваемое состояние, а также тех пациентов, которых не лечили. Поскольку пациенты с раком молочной железы с тройным негативным фенотипом могут иметь гетерогенные клинические проявления и изменяющиеся клинические результаты, лечение, обеспечиваемое пациенту может варьировать, в зависимости от его/ее прогноза. Опытный клиницист сможет легко определить без излишнего экспериментирования конкретные вторичные средства, виды хирургического вмешательства и виды безмедикаментозной стандартной терапии, которые могут эффективно применяться для лечения индивидуального пациента с раком молочной железы с тройным негативным фенотипом.

В одном варианте осуществления, рак молочной железы с тройным негативным фенотипом представляет собой рак, при котором активируется путь PI3K/mTOR. В некоторых вариантах осуществления, рак молочной железы с тройным негативным фенотипом представляет собой рак, при котором путь PI3K/mTOR активируется вследствие потери PTEN, мутации PIK3Ca или сверхэкспрессии EGFR или их комбинации.

#### 4.6. Фармацевтические композиции и пути введения.

В данной заявке предоставлены композиции, содержащие эффективное количество ингибитора TOR-киназы, и композиции, содержащие эффективное количество ингибитора TOR-киназы и фармацевтически приемлемые носитель или среду. В нескольких вариантах осуществления, фармацевтические композиции, описанные здесь, являются подходящими для перорального, парентерального, чресслизистого, чрескожного или местного введения.

Ингибитор TOR-киназы могут вводиться пациенту перорально или парентерально в общепринятой форме препаратов, такой как капсулы, микрокапсулы, таблетки, гранулы, порошок, пастилки, пилюли, суппозитории, инъекции, суспензии и сиропы. Подходящие готовые лекарственные формы могут быть получены посредством способов, обычно применяемых с использованием общепринятых, органических или неорганических добавок, таких как эксципиент (например, сахароза, крахмал, маннит, сорбит, лактоза, глюкоза, целлюлоза, тальк, фосфат кальция или кальция карбонат), связующее вещество (например, целлюлоза, метилцеллюлоза, гидроксиметилцеллюлоза, полипропилпириролидон, поливинилпириролидон, желатин, аравийская камедь, полиэтиленгликоль, сахароза или крахмал), разрыхлитель (например, крахмал, карбоксиметилцеллюлоза, гидроксипропилкрахмал, низкозамещенная гидроксипропилцеллюлоза, бикарбонат натрия, фосфат кальция или цитрат кальция), смазка (например, стеарат магния, легкая безводная кремниевая кислота, тальк или лаурилсульфат натрия), ароматизатор (например, лимонная кислота, ментол, глицин или апельсиновый порошок), консервант (например, натрия бензоат, бисульфит натрия, метилпарабен или пропилпарабен), стабилизатор (например, лимонная кислота, натрия цитрат или уксусная кислота), суспендирующее средство (например, метилцеллюлоза, поливинилпириролидон или стеарат алюминия), диспергатор (например, гидроксипропилметилцеллюлоза), разбавитель (например, вода), и восковая основа (например, масло какао, белый вазелин или полиэтиленгликоль). Эффективное количество ингибитора TOR-киназы в фармацевтической композиции может находиться на уровне, который будет проявлять желательный эффект; например, приблизительно от 0,005 мг/кг массы тела пациента до приблизительно 10 мг/кг массы тела пациента в единичной дозировке как для перорального, так и парентерального введения.

Доза ингибитора TOR-киназы для введения пациенту является довольно широко изменчивой и может являться результатом мнения медицинского работника. Как правило, ингибиторы TOR-киназы могут вводиться от одного до четырех раз в день при дозе, равной от приблизительно 0,005 мг/кг массы тела пациента до приблизительно 10 мг/кг массы тела пациента у пациента, но указанная выше дозировка может соответствующим образом изменяться в зависимости от возраста, массы тела и медицинского состояния пациента и типа введения. В одном варианте осуществления, доза составляет от приблизительно 0,01 мг/кг массы тела пациента до приблизительно 5 мг/кг массы тела пациента, от приблизительно 0,05 мг/кг массы тела пациента до приблизительно 1 мг/кг массы тела пациента, от приблизительно 0,1 мг/кг массы тела пациента до приблизительно 0,75 мг/кг массы тела пациента, от приблизительно 0,25 мг/кг массы тела пациента до приблизительно 0,5 мг/кг массы тела пациента, или приблизительно от 0,007 мг/кг массы тела пациента до приблизительно 1,7 мг/кг массы тела пациента. В одном варианте осуществления, одна доза дается в день. В еще одном варианте осуществления, две дозы даются в день. В любом данном случае, количество вводимого ингибитора TOR-киназы будет зависеть от таких факторов, как растворимость активного компонента, применяемой готовой лекарственной формы и пути введения.

В еще одном варианте осуществления, здесь предоставлены способы лечения или предотвращения рака молочной железы с тройным негативным фенотипом, включающие введение от приблизительно 0,375 до приблизительно 750 мг/день, от приблизительно 0,75 до приблизительно 375 мг/день, от приблизительно 3,75 до приблизительно 75 мг/день, от приблизительно 7,5 до приблизительно 55 мг/день, от приблизительно 18 до приблизительно 37 мг/день, от приблизительно 0,5 до приблизительно 60 мг/день или от приблизительно 0,5 до приблизительно 128 мг/день ингибитора TOR-киназы пациенту, нуждающемуся в этом. В еще одном варианте осуществления, здесь предоставлены способы лечения или предотвращения рака молочной железы с тройным негативным фенотипом, включающие введение от приблизительно 0,5 до приблизительно 1200 мг/день, от приблизительно 10 до приблизительно 1200 мг/день, от приблизительно 100 до приблизительно 1200 мг/день, от приблизительно 400 до приблизительно 1200 мг/день, от приблизительно 600 до приблизительно 1200 мг/день, от приблизительно 400 до приблизительно 800 мг/день или от приблизительно 600 до приблизительно 800 мг/день ингибитора TOR-киназы пациенту, нуждающемуся в этом. В конкретном варианте осуществления, способы раскрытые здесь, включают введение 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120 или 128 мг/день ингибитора TOR-киназы пациенту, нуждающемуся в этом.

В еще одном варианте осуществления, здесь предоставлены единичные лекарственные дозированные формы, которые содержат между приблизительно 0,1 и приблизительно 2000 мг, приблизительно 1 и 200 мг, приблизительно 35 и приблизительно 1400 мг, приблизительно 125 и приблизительно 1000 мг, приблизительно 250 и приблизительно 1000 мг, или приблизительно 500 и приблизительно 1000 мг ингибитора TOR-киназы.

В конкретном варианте осуществления, здесь предоставлена единичная лекарственная дозированная форма, содержащая приблизительно 0,1, 0,25, 0,5, 1, 5, 7,5, 10, 15, 20, 30, 45, 50, 60, 75, 100, 125, 150, 200, 250, 300, 400, 600 или 800 мг ингибитора TOR-киназы.

В еще одном варианте осуществления, здесь предоставлены единичные лекарственные дозированные формы, которые содержат 0,1, 0,25, 0,5, 1, 2,5, 5, 7,5, 10, 15, 20, 30, 35, 50, 70, 100, 125, 140, 175, 200, 250, 280, 350, 500, 560, 700, 750, 1000 или 1400 мг ингибитора TOR-киназы. В конкретном варианте осуществления, здесь предоставлены единичные лекарственные дозированные формы, которые содержат 5, 7,5, 10, 15, 20, 30, 45 или 60 мг ингибитора TOR-киназы.

Ингибитор TOR-киназы может вводиться однократно, два, три, четыре или несколько раз ежедневно.

Ингибитор TOR-киназы может вводиться перорально по причинам удобства. В одном варианте осуществления, когда его вводят перорально, ингибитор TOR-киназы вводят с пищей и водой.

В еще одном варианте осуществления, ингибитор TOR-киназы диспергируют в воде или соке (например, яблочном соке или апельсиновом соке) и вводят перорально как суспензию. В еще одном варианте осуществления, когда его вводят перорально, ингибитор TOR-киназы вводят натошак.

Ингибитор TOR-киназы может также вводиться внутривенно, внутримышечно, внутривагинально, интраназально, эпидурально, подъязычно, внутривагинально, трансдермально, ректально, через слизистые оболочки, посредством ингаляции или местно в уши, нос, глаза или кожу. Режим введения оставляют на усмотрение медицинского работника, и он может зависеть отчасти от локализации медицинского состояния.

В одном варианте осуществления, здесь предоставлены капсулы содержащие ингибитор TOR-киназы без дополнительных носителя, эксципиента или среды.

В еще одном варианте осуществления, здесь предоставлены композиции, содержащие эффективное количество ингибитора TOR-киназы и фармацевтически приемлемые носитель или среду, где фармацевтически приемлемые носитель или среда могут содержать эксципиент, разбавитель или их смесь. В одном варианте осуществления, композиция является фармацевтической композицией.

Композиции могут находиться в форме таблеток, жевательных таблеток, капсул, растворов, парентеральных растворов, пастилок, суппозиториев и суспензий и т.п. Композиции могут быть составлены



так, чтобы содержать дневную дозу, или удобную фракцию дневной дозы, в единице дозирования, которая может представлять собой единичную таблетку или капсулу или удобный объем жидкости. В одном варианте осуществления, растворы получают из водорастворимых солей, таких как гидрохлоридная соль. В целом, все из композиций получают в соответствии с известными способами фармацевтической химии. Капсулы могут быть получены посредством смешивания ингибитора TOR-киназы с подходящим носителем или разбавителем и заполнения капсул соответствующим количеством смеси. Обычные носители и разбавители включают, но не ограничены лишь ими, инертные порошкообразные вещества, такие как крахмал многих различных видов, порошкообразная целлюлоза, особенно, кристаллическая и микрокристаллическая целлюлоза, сахара, такие как фруктоза, маннит и сахароза, зерновая мука и аналогичные съедобные порошки.

Таблетки могут быть получены посредством прямого сжатия, посредством влажного гранулирования или посредством сухого гранулирования. Их готовые формы обычно включают разбавители, связующие вещества, смазывающие вещества и разрыхлители, а также соединения. Типовые разбавители включают, например, разнообразие типов крахмала, лактозу, маннит, каолин, фосфат или сульфат кальция, неорганические соли, такие как хлорид натрия и порошкообразный сахар. Порошкообразные производные целлюлозы также являются применимыми. В одном варианте осуществления, фармацевтическая композиция является безлактозной. Типовыми связующими веществами для таблеток являются вещества, такие как крахмал, желатин и сахара, такие как лактоза, фруктоза, глюкоза и т.п. Природные и синтетические камеди также являются удобными, включая акацию, альгинаты, метилцеллюлозу, поливинилпирролидин и т.п. Полиэтиленгликоль, этилцеллюлоза и воска могут также служить в качестве связующих веществ.

Смазывающее вещество может являться необходимым в составе таблетки, чтобы предотвратить слипание в головке пресса. Смазывающее вещество может быть выбрано из таких скользящих твердых веществ, как тальк, стеарат магния и кальция, стеариновая кислота и гидрированные растительные масла. Разрыхлители таблеток представляют собой вещества, которые набухают при увлажнении для разрушения таблетки и высвобождения соединения. Они включают крахмалы, глины, целлюлозы, альгины и камеди. Более конкретно, могут применяться, например, кукурузный и картофельный крахмалы, метилцеллюлоза, агар, бентонит, древесная целлюлоза, порошкообразная природная губка, катионообменные смолы, альгиновая кислота, гуаровая камедь, цитрусовая пульпа и карбоксиметилцеллюлоза, а также лаурилсульфат натрия. Таблетки могут быть покрыты сахаром в качестве ароматизатора и герметика, или пленкообразующими защитными средствами для модификации свойств растворения таблетки. Композиции могут также состоять как жевательные таблетки, например, посредством использования в составе веществ, таких как маннит.

Когда желательно вводить ингибитор TOR-киназы в качестве суппозитория, могут применяться типовые основы. Масло какао является традиционной суппозиторной основой, которая может быть модифицирована добавлением восков для незначительного повышения ее температуры плавления.

Смешивающиеся с водой суппозиторные основы, содержащие, в особенности, полиэтиленгликоли с разнообразными молекулярными массами являются широко распространенными.

Эффект ингибитора TOR-киназы может быть задержан или пролонгирован посредством соответствующего состава. Например, медленно растворимая гранула ингибитора TOR-киназы может быть получена и введена в таблетку или капсулу, или в качестве имплантируемого устройства для медленного высвобождения. Метод также включает изготовление гранул с несколькими различными скоростями растворения и заполнение капсул смесью гранул. Таблетки или капсулы могут быть покрыты пленкой, которая сопротивляется растворению в течение предсказанного периода времени. Даже парентеральные препараты могут быть изготовлены долгодействующими, посредством растворения или суспендирования ингибитора TOR-киназы в масляных или эмульгированных средах, которые обеспечивают его медленное диспергирование в сыворотке.

## 5. Примеры

### 5.1. Биологические примеры.

#### 5.1.1. Биохимические анализы.

Анализ mTOR HTR-FRET. Следующий текст представляет собой пример анализа, который может применяться для определения ингибиторной активности TOR-киназы тестируемого соединения. Ингибиторы TOR-киназы растворяли в ДМСО и получали в виде 10 мМ исходных растворов и разбавляли соответствующим образом для экспериментов. Реагенты готовили следующим образом:

"Простой TOR-буфер" (применяемый для разбавления высокоглицериновой фракции TOR): 10 мМ Трис pH 7,4, 100 мМ NaCl, 0,1% Твин-20, 1 мМ DTT. mTOR от Invitrogen (кат#PV4753) разбавляли в данном буфере до аналитической концентрации, равной 0,200 мкг/мл.

Раствор АТФ/Субстрат: 0,075 мМ АТФ, 12,5 мМ MnCl<sub>2</sub>, 50 мМ Hepes, pH 7,4, 50 мМ β-GOP, 250 нМ Микроцистина 1R, 0,25 мМ ЭДТА, 5 мМ DTT и 3,5 мкг/мл GST-p70S6.

Раствор обнаруживающего реагента: 50 мМ HEPES, pH 7,4, 0,01% Тритон X-100, 0,01% БСА, 0,1 мМ ЭДТА, 12,7 мкг/мл Су5-aGST Amersham (Cat#PA92002V), 9 нг/мл α-фосфо p70S6 (Thr389) (Клеточ-

ная Сигнализация Мышиная Моноклональная #9206L), 627 нг/мл  $\alpha$ -мышинной Lance Eu (Perkin Elmer Cat#AD0077).

К 20 мкл простого буфера mToG добавляют 0,5 мкл тестируемого соединения в ДМСО. Для инициации реакции, 5 мкл раствора АТФ/Субстрата добавляли к 20 мкл раствора простого буфера TOR (контроль) и к раствору соединения, полученному выше. Аналитический тест останавливали через 60 мин посредством добавления 5 мкл 60 мМ раствора ЭДТА; затем добавляли 10 мкл раствора обнаруживающего реагента и смеси давали возможность отстояться в течение по меньшей мере 2 ч перед считыванием на считывающем устройстве Perkin-Elmer Envision Microplate Reader, установленном на режим обнаружения LANCE Eu TR-FRET (возбуждение при 320 нм и эмиссия при 495/520 нм).

Ингибитор TOR-киназы тестировали в аналитическом тесте mToG HTR-FRET, и было обнаружено, что они имеют в нем активность, причем некоторые соединения имели  $IC_{50}$  ниже 10 мкМ в аналитическом тесте, некоторые соединения имели  $IC_{50}$  между 0,005 и 250 нМ, другие имели  $IC_{50}$  между 250 и 500 нМ, другие имели  $IC_{50}$  между 500 нМ и 1 мкМ, и другие имели  $IC_{50}$  между 1 и 10 мкМ.

Анализ ДНК-ПК. Анализы ДНК-ПК осуществляли с использованием методик, поставляемых с аналитическим набором Promega ДНК-ПК (каталог # V7870). Фермент ДНК-ПК был приобретен у Promega (Promega Kan#V5811).

Ингибитор TOR-киназы, как описано здесь, имеет, или ожидают, что он имеет,  $IC_{50}$  ниже 10 мкМ в данном аналитическом тесте.

#### 5.1.2. Клеточные аналитические тесты.

Анализ на ингибирование роста у клеточных линий рака молочной железы (РМЖ). Соединение 1 (ингибитор TOR-киназы, приведенный здесь, имеющий молекулярную формулу  $C_{16}H_{16}N_8O$ ) растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) для приготовления исходного 10 мМ раствора. Серийное титрование осуществляли для получения рабочего интервала концентраций, от 1,5 мкМ до 10 мМ. Аликвоты для получения конечных концентраций, равных от 1,5 нМ до 10 мкМ, вносили через акустический дозатор (EDC ATS-100) в пустой 384-луночный планшет. Соединения 1 и 2 вносили методом 10-точечного серийного разбавления  $\beta$ -кратное разбавление) в двух повторностях в планшет. Концентрация ДМСО поддерживалась постоянной для достижения конечной аналитической концентрации, равной 0,1% ДМСО. Планшеты дублировали для применения с различными клеточными линиями и периодами тестирования. После дублирования планшета с соединением, все планшеты герметически закрывали (Agilent ThermoLoc) и хранили при  $-20^{\circ}C$  в течение времени до 1 месяца. Повторное тестирование соединений 1 и 2 в контрольной клеточной линии (A549) приводило в результате к согласованным значениям  $GI_{50}$  и  $IC_{50}$  вне зависимости от последовательности дублирования или времени хранения при  $-20^{\circ}C$ , позволяя предположить, что соединения 1 являются стабильными при используемых условиях хранения в настоящем исследовании в течение по меньшей мере 1 месяца. При готовности к тестированию, планшеты удаляли из морозильной камеры, оттаивали, и распечатывали непосредственно перед добавлением тестируемых клеток. Перед тестированием, клетки выращивали и размножали в колбах для культур для обеспечения достаточных количеств исходного материала. Клетки затем разбавляли до соответствующих плотностей и добавляли непосредственно в 384-луночные планшеты с добавленным соединением. Клеткам давали расти в течение 96 ч при  $37^{\circ}C/5\% CO_2$ . При времени, когда соединение добавляли ( $t_0$ ), первоначальное количество клеток оценивали в аналитическом тесте на жизнеспособность (Cell Titer-Glo) посредством количественного определения уровня люминесценции, генерируемой АТФ, присутствующей в жизнеспособных клетках. Через 96 ч, клеточную жизнеспособность клеток, обработанных соединением, оценивали посредством Cell Titer-Glo и измерения люминесценции. Клеточные линии анализировали на предмет ингибирования роста посредством соединения 1 в по меньшей мере 3 независимых тестах. Контрольную клеточную линию (клеточную линию опухоли легкого, A549) включали в каждый из аналитических тестов. Ответ соединения против этой контрольной клеточной линии подвергали пристальному мониторингу, чтобы обеспечить сравнение данных, генерируемых на протяжении периода анализа. Все данные нормализовали и представляли в виде процентной доли ДМСО-обработанных клеток. Результаты затем выражали как значение  $GI_{50}$ . Значение  $GI_{50}$  корректировали для подсчета клеток при нулевой временной отметке. В дополнение, рассчитывали значение  $IC_{50}$  для соединения 1 для каждой клеточной линии. Результаты для соединения 1 для выбранных клеточных линий РМЖ приведены в табл. 1.

Таблица 1

Клеточная линия РМЖ	Подтип опухоли	n	GI <sub>50</sub> мкМ	GI <sub>50</sub> мкМ SD	GI <sub>50</sub> мкМ SEM
BT-20	ТО	3	0,116	0,0044	0,0026
BT-549	ТО	3	0,1461	0,053	0,0306
CAL-120	ТО	3	0,1818	0,0185	0,0107
CAL-148	ТО	3	0,1869	0,0539	0,0311
CAL-51	ТО	3	0,071	0,0046	0,0027
CAL-85-1	ТО	3	0,0888	0,026	0,015
DU4475	ТО	3	0,2373	0,0535	0,0309
HCC1143	ТО	3	0,3995	0,1287	0,0743
HCC1187	ТО	3	0,1954	0,0841	0,0486
HCC1806	ТО	3	0,1867	0,0344	0,0198
HCC1937	ТО	4	0,1613	0,0639	0,032
HCC2157	ТО	3	0,0515	0,0235	0,0135
HCC38	ТО	4	0,4298	0,0954	0,0477
HCC70	ТО	3	0,0942	0,0087	0,005
HDQ-P1	ТО	3	0,162	0,0515	0,0298
HS578T	ТО	3	0,2859	0,0238	0,0138
MB157	ТО	4	0,3455	0,0512	0,0256
MDA-MB-157	ТО	3	0,4722	0,0366	0,0211
MDA-MB-231	ТО	3	0,1849	0,0119	0,0069
MDA-MB-436	ТО	4	0,2786	0,0143	0,0072
MDA-MB-468	ТО	3	0,0872	0,0177	0,0102
MT-3	ТО	3	0,1496	0,0715	0,0413

ТО = Тройной отрицательный (неположительный для рецептора эстрогена или рецептора прогестерона и не сверхэкспрессирует белок HER2).

SD = Среднеквадратичное отклонение.

SEM = Стандартная ошибка среднего значения.

Аналитический тест на апоптоз для клеточных линий РМЖ. Перед тестированием, клетки выращивали и размножали в колбах для культур для обеспечения достаточных количеств исходного материала. Клетки затем разбавляли до соответствующих плотностей и добавляли непосредственно в 384-луночные планшеты с добавленным соединением. Клеткам давали расти в течение 24 ч в 5% CO<sub>2</sub> при 37°C. Апоптотический ответ оценивали посредством количественной оценки активностей каспазы 3 и каспазы 7 (Каспазы 3/7-Glo) у обработанных клеток и контрольных клеток при временной отметке 24 ч. Все данные нормализовали и представляли в виде значения относительно ДМСО-обработанных клеток. Результаты затем выражали в виде CaIX, которая является минимальной концентрацией соединения, требуемой для удвоения уровня каспазы 3/7 относительно этих уровней ДМСО-обработанных клеток во время периода их обработки.

Результаты для соединения 1 по индукции апоптоза у выбранных клеточных линий РМЖ приведены в табл. 3.

Таблица 3

Клеточная линия РМЖ	Подтип опухоли	n	CaIX мкМ
BT-20	ТО	1	0,6025
BT-549	ТО	1	≥10
CAL-120	ТО	1	≥10
CAL-148	ТО	1	0,1583
CAL-51	ТО	1	0,3611
CAL-85-1	ТО	1	≥10

DU4475	TO	1	0,9448
HCC1143	TO	1	≥10
HCC1187	TO	1	0,6418
HCC1806	TO	1	≥10
HCC1937	TO	1	≥10
HCC2157	TO	1	1,3472
HCC38	TO	1	≥10
HCC70	TO	1	≥10
HDQ-P1	TO	1	≥10
HS578T	TO	1	≥10
MB157	TO	1	≥10
MDA-MB-157	TO	1	≥10
MDA-MB-231	TO	1	≥10
MDA-MB-436	TO	1	≥10
MDA-MB-468	TO	1	≥10
MT-3	TO	1	2,4106

TO = Тройной отрицательный (неположительный для рецептора эстрогена или рецептора прогестерона и не сверхэкспрессирует белок HER2).

### 5.1.3. Аналитические тесты *in vivo*.

Модель MDA-MB-231 тройного отрицательного (TO) рака молочной железы.

Исследование ксенотрансплантата проводили с MDA-MB-231 опухоленесущими мышами. Безтимусных мышей инокулировали подкожно клетками MDA-MB-231 в паховую область выше правой задней ноги. После инокуляции животных, опухолям давали вырасти до приблизительно 150 мм<sup>3</sup> перед рандомизацией. На день 38 после инокуляции опухолевыми клетками, мышей, несущих опухоли MDA-MB-231, в интервале между 65 и 304 мм<sup>3</sup> собирали вместе и рандомизировали в разнообразные группы для обработки. Соединение 1 составляли в 0,5% КМЦ и 0,25% Твин 80 в воде (в виде суспензии). Животным перорально вводили среду (КМЦ-Твин) или соединение 1 один раз в день (QD) в течение времени до 26 дней. Дозы соединения 1 находились в интервале между 1 и 5 мг/кг. Положительный контроль Таксотер (15 мг/кг, Q4D) вводили через внутривенный (IV) путь. Таксотер разбавляли в физиологическом растворе. Опухоли измеряли дважды в неделю с использованием штангенциркулей, и объемы опухолей рассчитывали, используя формулу,  $W^2 \times L / 2$  (где "W" является шириной опухоли и "L" является длиной опухоли). Соединение 1 ингибировало рост опухоли рака молочной железы MDA-MB-231 (см. чертеж).

### 5.1.4. Клиническое исследование.

Фаза 1A/1B, многоцентрового, открытого, с выбором оптимального режима дозирования исследования для оценки безопасности, переносимости, фармакокинетики и предварительной эффективности действия соединения 1, вводимого перорально субъектам с раком молочной железы с тройным негативным фенотипом или гормон-рецепторным положительным раком молочной железы соединение 1 будет вводиться перорально субъектам с раком молочной железы с тройным негативным фенотипом или гормон-рецепторным положительным раком молочной железы. В данном исследовании будут оценены безопасность и переносимость соединения 1, а также эффективность его действия у людей.

Исследование будет проводиться двумя частями: увеличение дозы (часть А) и повышение дозы препарата до максимально переносимой (часть В).

Субъекты будут включены в исследование последовательно в части А. Включение в часть В будут разделены по типу опухоли.

Соединение 1 будет доступно при трех активностях препарата (0,25, 1,0 и 5,0 мг), присутствующих в желатиновых капсулах, содержащих только активный фармацевтический ингредиент. Капсулы будут упакованы в бутылки из полиэтилена высокой плотности (HDPE), снабженные индукционной запайкой и полипропиленовыми крышками с защитой от вскрытия детьми полипропиленовыми крышками. Фармацевты-исследователи будут распаковывать и проводить распределение соответствующим образом для каждого субъекта.

30-60 субъектов будут включены в исследование в части А, запланированной для установления первоначальной токсичности.

Часть В будет состоять из приблизительно 100 субъектов с предварительно указанными типами опухолей, включающими рак молочной железы с тройным негативным фенотипом или гормон-рецепторный положительный рак молочной железы, чтобы дополнительно оценить профиль безопасности соединения 1 и получить информацию об эффективности действия. Степень ремиссии опухоли будет оцениваться по типу опухоли и уровню дозы. Популяция в части В будет определена по эффективности действия, наблюдаемой во время части А и по данным продолжающихся доклинических исследований.

Общий план исследования будет включать период отбора (день 28 до дня 1), период лечения и оценки (28-дневный QD (и/или BID) циклы до прогрессирования опухоли, неприемлемой токсичности

или решения субъекта/терапевта о прекращении введения соединения 1) и период окончания лечения и последующего наблюдения (окончание лечебных процедур в пределах 21 дня до последней дозы; последующее наблюдение в течение 28 дней после последней дозы для окончательной оценки безопасности).

Субъекты будут начинать QD или BID дозирование соединения 1 (или другой подходящий режим) в день 1 цикла 1 и получать ежедневное лечение в течение 28-дневных циклов. Введение соединения 1 может прекращаться, когда существует явное свидетельство прогрессирования опухоли, но субъекты могут продолжать принимать исследуемое лекарственное средство, пока Исследователь считает, что они извлекают от этого пользу. Введение соединения 1 будет прекращено, когда имеет место неприемлемая токсичность, или субъект решит выйти из исследования.

Соединение 1 будет вводиться перорально либо однократно или дважды в день (или при другом подходящем режиме дозирования) без какого-либо периода отдыха между циклами. Каждая QD доза будет приниматься утром с по меньшей мере 200 мл воды, причем субъект не принимает пищу в течение ночи (минимально 6 ч). Прием пищи будет отложен на по меньшей мере 90 мин после дозирования в дни приема соединения 1 на дому. В дни посещения клиники, утренняя доза соединения 1 будет вводиться в клинике после завершения каких-либо тестов перед дозированием. Пища может приниматься после завершения всех тестов натощак, но ни в каком случае ранее, чем 90 минут после дозирования (3 ч после дозирования в день 15). Для субъектов, получающих соединение 1 QD, где относящиеся к GI симптомы беспокойства, утомления или другие симптомы сохраняются не дольше конца цикла 1, дозирование может продолжаться позднее на день, при условии, что субъект может выдерживать разделяющий интервал в 3 ч между введением соединения 1 и последним приемом пищи, и 90-минутную задержку перед приемом внутрь дополнительной пищи. Соединение 1 может приниматься на вплоть до 12 ч позднее, если дозирование было отложено на единственный день; в ином случае эта доза должна быть пропущена.

Соединение 1 будет вводиться первоначально в режиме QD.

Дозы будут вводиться с возрастанием после удовлетворительного обзора данных по безопасности от низких доз. После введения первой дозы последнему субъекту между увеличениями дозы будет минимально 28 дней. В пределах каждой когорты, включение в исследование будет проводиться в шахматном порядке, так чтобы было минимально 24 ч между днем 1 цикла 1 для каждого субъекта, чтобы оценить первоначальную токсичность.

Каждый цикл соединения 1 длится 28 дней и между циклами отсутствует период покоя. Субъекты могут продолжать принимать соединение 1 так долго, пока они смогут получать благоприятный эффект от лечения, по заключению Исследователя. Введение соединения 1 будет прекращено, когда существует свидетельство прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности или, когда, либо субъект или Исследователь решают прекратить его.

В части А, когорты субъектов будут первоначально принимать возрастающие дозы QD соединения 1 для измерения ФК и для идентификации MTD. План модифицированного ускоренного титрования (Simon, R., Freidlin, B., Rubinstein, L., et al., Accelerated titration designs for Phase I clinical trials in oncology, *J Natl Cancer Institute* 1991; 89, (15): 1138-1147) будет использоваться для установления первоначальной токсичности. Во время ускоренной фазы, первоначальной когорте из одного субъекта будет дано соединение 1 при инкрементах дозы, равным 100% до первого случая степени 2 первого цикла 2 или более высокой токсичности, с подозрением на отношение к лекарственному средству, причем в данной точке ускоренная фаза будет остановлена, и эта конкретная когорта будет расширена до всего 6 субъектов. Последовательно будет инициирован стандартный режим увеличения дозирования с приблизительно 50% инкрементами дозы, и 6 субъектов на когорту будут инициированы, чтобы установить NTD и MTD. Более низкие инкременты и дополнительные субъекты в пределах дозовой когорты могут также оцениваться, при необходимости, на основе токсичности, результатов ФК/ФД или обнаружений опухолевых биопсий.

На основании промежуточных результатов ФК и ФД от первоначальной дозовой когорты, режим дозирования дважды в день (BID) будет также оцениваться в части А. Он будет инициирован в когортах из 6 субъектов при уровне полной дневной дозы или ниже, для которой уже показана переносимость, но разделенной на две равные дозы, вводимые обособленно приблизительно через 12 ч. Затем наращивание дозы для когорт дозирования QD и BID может происходить независимо. Режимы дозирования с перерывами при сравнимой или более низкой интенсивности дозы, чем при непрерывном ежедневном дозировании могут также учитываться для оценки.

Доза будет считаться непереносимой, если 2 или несколько из 6 оцениваемых субъектов в дозовой когорте испытывают DLT во время цикла 1. Когда определяют NTD, увеличение дозы будет остановлено. MTD будет определена как последняя доза, тестируемая ниже NTD с 0 или 1 из 6 оцениваемых субъектов, испытывающих DLT во время цикла 1. Промежуточная доза (т.е. доза между NTD и последним уровнем дозы перед NTD) или дополнительные субъекты в пределах любой дозовой когорты могут потребоваться, чтобы более точно определить MTD, как можно делать при чередующихся режимах, если новые результаты ФК-ФД предполагают, что они могут быть соответствующими.

В части В, субъекты могут начинать прием соединения 1 на базе режима QD или BID при MTD и/или более низких уровнях дозы, основываясь на данных по безопасности, данных ФК и ФД из части А. В части В приблизительно 100 субъектов будут оценены на предмет безопасности и противоопухолевой

активности после каждых двух циклов терапии.

Все субъекты, которые принимают по меньшей мере одну дозу соединения 1 будут оцениваемыми на предмет безопасности. В части А, субъект, оцениваемый по дозолIMITИРУЮЩЕЙ токсичности (DLT) определен, как пациент, который, через первые 28 дней после дозирования цикла 1 начинал, либо (а) получать по меньшей мере 21 из планируемых 28 доз соединения 1 при установленной для когорты дозе и имеет достаточно данных для оценки безопасности посредством SRC, или (б) испытывать DLT, относящуюся к исследуемому лекарственному средству. Неоцениваемых субъектов будут заменять в когорте дозирования. В части В, субъекта, оцениваемого по эффективности действия на ответ опухоли, определяют как пациента, который получал по меньшей мере один цикл соединения 1, и имеет оценку эффективности действия на исходном уровне и по меньшей мере одну такую оценку после исходного уровня.

В частях А и В, уменьшения дозы разрешаются в любом цикле, включая цикл 1. Уменьшения дозы, которые имеют место в цикле 1 во время части А, будут составлять DLT, но субъектам будет разрешено продолжать прием исследуемого лекарственного средства при уменьшенной дозе. Для ранжирования Нежелательных Явлений (НЯ) будут применяться Общие Терминологические Критерии для Нежелательных Явлений Национального Института Рака (National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (NCI CTCAE) Версия 4, 2009).

Когда показано уменьшение дозы, будет выбран следующий уровень более низкой дозы на основе схемы QD или BID.

Для уменьшений дозы по схеме BID ниже исходной дозы будут выбраны дозы, равные 10 мг BID, 8 мг BID и 4 мг BID. Разрешены 2 уменьшения дозы. Дополнительные оценки ФК могут проводиться при модифицированных уровне(уровнях) дозы, чтобы характеризовать интрасубъектные профили ФК с чередующимися дозами.

В части А, интрасубъектное наращивание дозы за пределами дозы, первоначально назначенной субъекту, не разрешено в цикле 1. Субъекты, продолжающие принимать соединение 1 вне цикла 1 могут, после разрешения от SRC, иметь увеличенный уровень дозы, обеспечивая альтернативный уровень дозы, для которого была продемонстрирована хорошая переносимость для по меньшей мере одной когорты других субъектов в этом исследовании. В этих случаях, может проводиться дополнительная оценка ФК при более высоком уровне дозы. В части В, никакое наращивание дозы за пределами MTD не разрешается.

Первичными целями этой Фазы 1a/1b исследования являются определение безопасности, переносимости, NTD и MTD соединения 1, когда его вводят перорально взрослым субъектам и определение ФК характеристик перорального соединения 1. Вторичными целями являются оценка степени ингибирования фосфорилирования S6RP и/или 4E-BP1 для активности mTORC1 и АКТ и/или других релевантных биомаркеров для активности mTORC2 в крови, коже и/или биопсиях опухоли/аспиратах и исследование противоопухолевой активности соединения 1 при выбранных уровнях дозы/режимах по типу опухоли. Дополнительными вторичными целями являются оценка ингибирования активности ДНК-ПК в образцах кожи, облученных УФ-светом и/или биопсиях опухоли/аспиратах с использованием рДНК-ПК S2056 и других релевантных биомаркеров для путей повреждения ДНК перед лечением соединением 1 и во время лечения.

В дальнейшем будет осуществляться статистический анализ фазы исследования, уровня дозы, режима дозирования и опухолевой когорты, как это является необходимым или применимым.

Определения популяции для исследования являются следующими:

(а) популяция "намеренных лечиться" (ИТТ) - все субъекты, которые принимают по меньшей мере одну дозу соединения 1;

(б) выборка для оценки безопасности - все субъекты, которые принимают по меньшей мере одну дозу соединения 1, которая является идентичной ИТТ-популяции для этого исследования;

(с) популяция, оцениваемая по эффективности действия (ЕЕ) - все ИТТ субъекты, которые соответствуют критериям отбора, завершают по меньшей мере один цикл соединения 1 и имеют исходный уровень и по меньшей мере одну зачетную оценку эффективности действия после исходного уровня.

Включение субъектов в исследование будет прекращено, когда до 20 оцениваемых субъектов включены в исследование по каждому типу опухоли и уровню дозы/режима. В части В, в целом, размеры образцов не основаны на статистическом вычислении, но в большей степени основаны на клинических эмпирических и практических аспектах, традиционно используемых для фазы 1 исследований данного вида.

Все оцениваемые по эффективности действия субъекты в разделе части В будут включены для анализа эффективности действия. Эффективность действия будет проанализирована по каждому типу опухоли, как только все субъекты будут выведены из исследования или завершат 6 циклов. Двусторонние 95%-ные доверительные интервалы частоты ответа будут обеспечены по типу опухоли. Будет предоставлено индивидуальное описание всех субъектов, которые проявляли полный или частичный ответ во время сегмента части А. Описательный анализ других свидетельств противоопухолевой активности будет предоставлен на основании клинических, рентгенологических и биологических оценок эффективности действия.

Субъектов будут оценивать по эффективности действия во время циклов с четными номерами. Первичной переменной эффективности действия является частота ответа. Ответ опухоли будет основан на RECIST 1.1. Другие дополнительные переменные эффективности действия, включая оценки СТС, будут просуммированы с использованием табулированной частоты для категориальных переменных или описательной статистики для непрерывных переменных.

Как для частей с наращиванием дозы, так и частей с повышением дозы до максимально переносимой этого протокола критериями включения являются:

- (a) понимание и добровольное подписание документа об информированном согласии перед проведением любых относящихся к исследованию оценок/процедур;
- (b) мужчины и женщины, 18 лет или старше, с гистологическим или цитологическим подтверждением рака молочной железы с тройным негативным фенотипом;
- (c) согласие на скрининг опухолевой биопсии;
- (d) ECOG PS, равное 0 или 1; (e) следующие лабораторные показатели:
  - (1) абсолютное содержание нейтрофилов (ANC)  $>1,5 \times 10^9/\text{л}$ ;
  - (2) гемоглобин (Hgb)  $>9$  г/дл;
  - (3) тромбоциты (pit)  $>100 \times 10^9/\text{л}$ ;
  - (4) калий в пределах интервала нормы или корректируемые добавками;
  - (5) AST/SGOT и ALT/SGPT  $<2,5 \times$  верхний предел нормы (ULN) или  $<5,0 \times$  ULN, если присутствует опухоль печени;
  - (6) общий сывороточный билирубин  $<1,5 \times$  ULN;
  - (7) сывороточный креатинин  $<1,5 \times$  ULN или 24-часовой клиренс  $>50$  мл/мин; и
  - (8) отрицательный результат теста на беременность в сыворотке или моче в пределах 72 ч перед началом исследовательского лечения у женщин с репродуктивным потенциалом; и
- (f) способность следовать графику визитов исследования и другим требованиям протокола.

Для части с повышением дозы до максимально переносимой (части В) этого протокола, критериями включения являются:

согласие субъекта на возврат фиксированной в формалине, погруженной в парафин (FFPE) хранящейся в архиве опухолевой ткани, либо в виде опухолевых блоков или секционированных/собранных образцов; и гистологически подтвержденный рак молочной железы с тройным негативным фенотипом (местнораспространенная, рецидивирующая или метастатическая карцинома молочной железы, эстроген-рецепторная (ER), прогестерон-рецепторная (PR), и HER2/пепи-отрицательная опухоль; измеряемое заболевание в соответствии с RECIST v1.1; должны получать по меньшей мере одну предшествующую линию химиотерапии; бисфосфонаты или денусомаб разрешены к приему в устойчивых дозах; когорта может быть расширена для включения минимально 5 субъектов, причем каждый имеет опухоли, содержащие мутации ATM и BRCA; и согласие на проведение парных (скрининговой и во время лечения) биопсий опухоли или гормон-рецепторного положительного рака молочной железы (неоперабельная местнораспространенная или метастазирующая карцинома молочной железы; ER и/или PR положительная опухоль с известным статусом HER2/пепи; измеряемое заболевание в соответствии с RECIST v1.1; должны получать по меньшей мере одну предшествующую линию химиотерапии; бисфосфонаты или денусомаб разрешены к приему в устойчивых дозах; когорта может быть расширена для включения минимально 5 субъектов, причем каждый имеет опухоли, содержащие мутации ATM и BRCA; и согласие на проведение парных (скрининговой и во время лечения) биопсий опухоли.

Как для частей с наращиванием дозы, так и частей с повышением дозы до максимально переносимой этого протокола критериями исключения являются:

- (a) симптоматические метастазы центральной нервной системы;
- (b) известный острый или хронический панкреатит;
- (c) любая периферическая нейропатия  $\geq$  NCI CTCAE степени 2;
- (d) постоянная диарея или мальабсорбция  $\geq$  NCI CTCAE степени 2, несмотря на медицинские мероприятия. Нарушенная способность к глотанию;
- (e) нарушенная сердечная функция или клинически значимые заболевания сердца;
- (f) сахарный диабет на стадии активного лечения;
- (g) другие совпадающие тяжелые и/или неконтролируемые сопутствующие медицинские состояния (например, активная или неконтролируемая инфекция), которая может вызывать неприемлемые риски для безопасности или нарушение протокола;
- (h) предшествующие системные направленные на рак терапии или исследовательские модальности  $<5$  периодов полужизни или 4 недели, в зависимости от того, которая короче, перед началом приема исследовательского лекарственного средства, или, которые не восстановились от побочных эффектов такой терапии;
- (i) основное хирургическое вмешательство  $\leq 2$  недели перед началом приема исследовательского лекарственного средства, или, которые не восстановились от побочных эффектов такой терапии;
- (j) беременность или грудное вскармливание;

(к) взрослые люди с репродуктивным потенциалом, не использующие две формы контроля над рождаемостью;

(l) известная инфекция ВИЧ;

(m) известный хронический гепатит В или инфекция вируса гепатита С (HBV/HCV), если это не является сопутствующей патологией с НСС;

(n) любое значимое медицинское состояние, лабораторная аномалия или психиатрическое заболевание, включающее неспособность проглатывать капсулы, которые могли бы препятствовать участию субъектов в исследовании;

(o) любое состояние, включающее присутствие лабораторных аномалий, которое помещает субъектов в группу неприемлемого риска, если они будут участвовать в исследовании;

(р) любое состояние, которое нарушает способность интерпретировать данные исследования; или

(q) сопутствующее активное второе злокачественное заболевание, для которого субъект получает терапию, исключая немеланомотозный рак кожи или карциному *in situ* шейки матки.

Для части с повышением дозы до максимально переносимой (часть В) данного протокола, критериями исключения являются: Предшествующее лечение средствами, нацеленными как на комплексы mTOR (двойные ингибиторы TORC1+TORC2), так и/или на пути PI3K/AKT. Однако предшествующее лечение с использованием выделенных ингибиторов TORC1 (например, рапалогов) допускается в обеих частях этого исследования.

В нескольких вариантах осуществления пациенты, проходящие через клинический протокол, предоставленный здесь, будут демонстрировать положительный ответ опухоли, такой как ингибирование роста опухоли или снижение размера опухоли. В некоторых вариантах осуществления, пациенты, проходящие через клинический протокол, предоставленный здесь, будут достигать критериев оценки ответа при солидных опухолях (например, RECIST 1.1) полного ответа, частичного ответа или стабильного заболевания после введения эффективного количества соединения 1. В некоторых вариантах осуществления пациенты, проходящие через клинический протокол, предоставленный здесь, будут демонстрировать увеличенную степень выживаемости без прогрессирования опухоли. В нескольких вариантах осуществления пациенты, проходящие через клинический протокол, предоставленный здесь, будут демонстрировать ингибирование прогрессирования заболевания, ингибирование роста опухоли, уменьшение первичной опухоли, смягчение относящихся к опухоли симптомов, ингибирование факторов, секретируемых опухолью (включая гормоны, секретируемые опухолью, такие как гормоны, которые способствуют развитию карциноидного синдрома), отложенное появление первичных или вторичных опухолей, замедленное развитие первичных или вторичных опухолей, сниженное появление первичных или вторичных опухолей, замедленную или сниженную тяжесть вторичных эффектов заболевания, остановленный рост опухоли и регрессию опухолей, увеличенное время до прогрессирования заболевания (TTP), увеличенную выживаемость без прогрессирования заболевания (PFS), и/или увеличенную общую выживаемость (OS), среди прочего.

Был цитирован ряд ссылок, раскрытие которых включено здесь посредством ссылки в их полноте. Варианты осуществления, раскрытые здесь, не являются ограниченными по объему конкретными вариантами осуществления, раскрытыми в примерах, которые предназначены для иллюстрирования нескольких аспектов раскрытых вариантов осуществления, и любые варианты осуществления, которые являются функционально эквивалентными, охватываются настоящим раскрытием. Несомненно, разнообразные модификации вариантов осуществления, раскрытых здесь, являющиеся дополнением к вариантам осуществления, показанным и описанным здесь, станут очевидными для квалифицированных специалистов в области и предназначены для включения в пределы объема притязаний прилагаемой формулы изобретения.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака молочной железы с тройным негативным фенотипом, включающий введение эффективного количества 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиазин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера пациенту, имеющему рак молочной железы с тройным негативным фенотипом,

где пациенту вводят каждый день от 8 до 90 мг/день 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиазин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера.

2. Способ по п.1, где пациенту вводят два раза в день 4 или 8 мг каждый раз 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиазин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера.

3. Способ по п.1, где пациенту вводят 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиазин-2(1H)-он или его фармацевтически приемлемую соль, стереоизомер или таутомер в дозе 8, 16 или 20 мг один раз в день; или дважды в день каждый раз в дозе 10 мг.

4. Способ по п.1, где рак молочной железы с тройным негативным фенотипом является раком, при



котором активируется путь PI3K/mTOR.

5. Способ по п.4, где рак молочной железы с тройным негативным фенотипом является раком, при котором путь PI3K/mTOR активируется вследствие потери PTEN, мутации PIK3Ca или сверхэкспрессии EGFR, или их комбинации.

6. Способ по п.1, где указанному пациенту вводят 10 мг/день 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера.

7. Способ улучшения состояния согласно критерию оценки ответа при солидных опухолях (RECIST 1.1) у пациента, включающий введение эффективного количества 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера пациенту, имеющему рак молочной железы с тройным негативным фенотипом, где указанному пациенту вводят эффективное количество 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера,

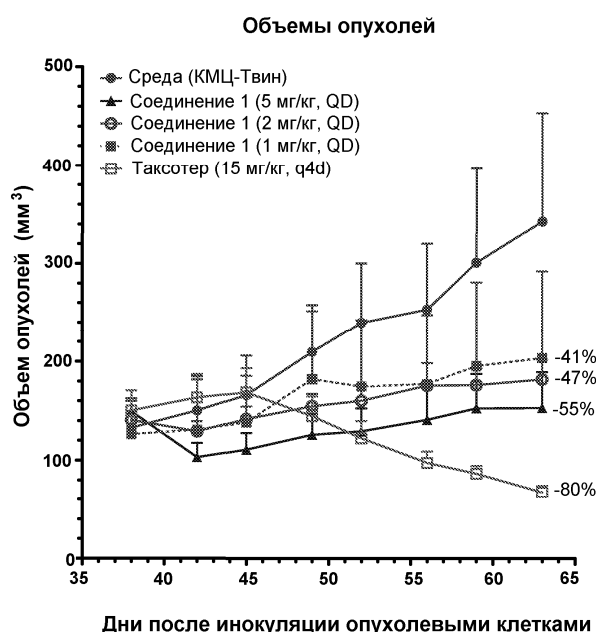
где пациенту вводят каждый день от 8 до 90 мг/день 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера.

8. Способ по п.7, где рак молочной железы с тройным негативным фенотипом является раком, при котором активируется путь PI3K/mTOR.

9. Способ по п.8, где рак молочной железы с тройным негативным фенотипом является раком, при котором путь PI3K/mTOR активируется вследствие потери PTEN, мутации PIK3Ca или сверхэкспрессии EGFR, или их комбинации.

10. Способ по п.7, где пациенту вводят два раза в день 4 или 8 мг каждый раз 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера.

11. Способ по п.7, где пациенту вводят 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он или его фармацевтически приемлемую соль, стереоизомер или таутомер в дозе 8, 16 или 20 мг один раз в день; или дважды в день каждый раз в дозе 10 мг.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2