

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040062**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.04.15

(21) Номер заявки
201891514

(22) Дата подачи заявки
2016.12.20

(51) Int. Cl. *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/337 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)

(54) **СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ГЛИОБЛАСТОМЫ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИЕЙ
ИНГИБИТОРОМ БРОМОДОМЕНА И ЭКСТРАТЕРМИНАЛЬНОГО БЕЛКА**

(31) **62/387,359; 62/413,763**

(32) **2015.12.24; 2016.10.27**

(33) **US**

(43) **2019.01.31**

(86) **PCT/US2016/067860**

(87) **WO 2017/112703 2017.06.29**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**СЕЛДЖЕН КВОНТИСЕЛ РИСЁРЧ,
ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:
**Николова Зариана (СН), Чо Роберт,
Стаффорд Джеффри Алан (US)**

(74) Представитель:
Строкова О.В. (RU)

(56) **WO-A2-2015160986
WO-A1-2015018522**

(57) В целом, изобретение относится к комбинированной терапии, в частности к способу лечения глиобластомы, включающему введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества по меньшей мере одного ингибитора бромодомена и экстратерминального белка (ВЕТ) и темозоломида. Ингибитор ВЕТ представляет собой 4-[2-(циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-он или его фармацевтически приемлемую соль. Комбинированная терапия указанным ингибитором ВЕТ/темозоломидом может вызывать синергические эффекты, тем самым повышая эффективность лечения рака по сравнению с отдельным введением ингибитора ВЕТ или темозоломида.

B1

040062

**040062
B1**

Родственные заявки

Заявка на данное изобретение испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США 62/387359, поданной 24 декабря 2015 г., и предварительной заявки на патент США № 62/413763, поданной 27 октября 2016 г., полное содержание которых включено в настоящее описание посредством отсылки.

Область техники, к которой относится изобретение

В вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, предлагаются композиции, составы и способы лечения рака и неопластического заболевания; при этом такие способы лечения предусматривают комбинированные терапии, включающие введение ингибитора бромодомена и экстрактерминального белка (ВЕТ) и химиотерапевтического агента, такого как темозоломид или паклитаксел.

Сведения о предшествующем уровне техники

Сохраняется потребность в композициях, составах и способах, предназначенных для лечения субъектов, имеющих рак, такой как, например, базальноклеточная карцинома, рецидивная или рефрактерная форма неходжкинской лимфомы (NHL), мультиформная глиобластома, анапластическая астроцитомы и другие распространенные солидные опухоли.

Например, базальноклеточная карцинома (ВСС) является распространенной во всем мире формой рака, и частота случаев ее возникновения увеличивается. Только в Соединенных Штатах ежегодно диагностируется более 3,5 миллионов новых пациентов с немеланомным раком кожи. Большинство базальноклеточных карцином (ВСС) поддаются лечению с помощью местной терапии, хирургического лечения, лучевой терапии или их комбинации. Однако распространенная ВСС часто приводит к значительному обезображиванию и осложнениям в комплексе с соответствующими физическими и психологическими последствиями, поскольку ВСС обычно возникает в областях, подверженных воздействию солнца, таких как лицо. Кроме того, малая доля этих типов рака является метастатической и не поддается лечению стандартной терапией. Почти все базальноклеточные карциномы связаны с аберрантным сигнальным путем Хэдджог (Hedgehog, Hh), который стимулирует нерегулируемый клеточный рост, и несколько терапевтических ингибиторов Hh доказали свою эффективность в лечении ВСС. К сожалению, около 20% базальноклеточных карцином (ВСС) развивают устойчивость к существующим ингибиторам Hh, как правило, посредством реактивации пути Hh посредством мутаций, которые влияют на связывающий лекарственное средство карман, увеличивают сигнальную активность Hh, или действуют посредством одновременных изменений числа копий генов-супрессоров. Пациенты будут получать благоприятный эффект в результате разработки хорошо переносимых агентов, которые преодолевают эти пути устойчивости, например, путем нацеливания на нижележащие белки в соответствующих сигнальных путях.

Сущность изобретения

Способ лечения глиобластомы, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества по меньшей мере одного ингибитора бромодомена и экстрактерминального белка (ВЕТ) и темозоломида, и причем ингибитор ВЕТ представляет собой 4-[2-(циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-он или его фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления изобретения введение ингибитора ВЕТ и темозоломида приводит к синергическому уменьшению клеточной пролиферации в опухоли пациента или синергическому увеличению апоптоза в опухоли пациента по сравнению с отдельным введением либо ингибитора ВЕТ, либо темозоломида. В одном варианте осуществления изобретения терапевтически эффективное количество как для ингибитора ВЕТ, так и для темозоломида при совместном введении может быть по меньшей мере на 50% ниже, чем при индивидуальном применении ингибитора ВЕТ и темозоломида. В одном варианте осуществления глиобластома является резистентной к темозоломиду. В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ присутствует в количестве, которое усиливает терапевтический эффект темозоломида.

Описание чертежей

На фиг. 1 представлен график, показывающий дозозависимое ингибирование роста опухоли, измеренное по объему опухоли в модели TNBC PDX, CON70, после дозирования Соединения А, (4-[2-(циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-она).

Соединение А вводили перорально (РО) один раз в сутки в течение трех последовательных дней с последующими четырьмя днями лекарственных каникул (3×/в неделю); — носитель; ---- Соединение А, 12,5 мг/кг, РО, 3×/в неделю; — — Соединение А, 16 мг/кг, РО, 3×/в неделю; - — - — Соединение А, 20 мг/кг, РО, 3×/в неделю; SEM - стандартная ошибка среднего значения.

На фиг. 2 представлен график, показывающий дозозависимое ингибирование роста опухоли, измеренное по объему опухоли в модели GBM PDX, GBM15, после дозирования Соединения А. — носитель; --- Соединение А, 15 мг/кг, РО, раз в сутки в течение 5 последовательных дней с последующими 2 днями лекарственных каникул (5/2); — — Соединение А, 25 мг/кг, РО, раз в сутки в течение 3 последовательных дней с последующими 4 днями лекарственных каникул; - — - — Соединение А, 37,5 мг/кг, РО, один раз в сутки в течение 2 последовательных дней с последующими 5 днями лекарственных каникул (2/5); SEM - стандартная ошибка среднего значения.

На фиг. 3 представлен график, показывающий ингибирование роста опухоли ксенотрансплантатов

GBM3 (GBM PDX) путем введения Соединения А, темозоломида (TMZ) или комбинации Соединения А и TMZ.

— носитель; ---- Соединение А, 12 мг/кг, PO, раз в сутки; - — - — Соединение А, 6 мг/кг, PO, два раза в сутки; — — Соединение А, 6 мг/кг, PO, два раза в сутки в комбинации с TMZ, 50 мг/кг, IP (интраперитонеальная инъекция), вводимые на дни 7-9 и 22-24; — — — TMZ, 50 мг/кг, IP, вводимый на дни 7-9, 22-24; SEM - стандартная ошибка среднего значения.

На фиг. 4 показано схематическое изображение дизайна всего исследования, полезного для демонстрации безопасности или эффективности фармацевтических композиций.

Фиг. 5 относится к вероятности развития дозолимитирующей токсичности (DLT) в соответствии априорным распределением. □ SE; ○ SM; δ SL; + FM; × FL.

На фиг. 6 показаны кривые токсичности доз, полезные для имитационного моделирования.

На фиг. 7 представлена схема, показывающая опубликованные рекомендации по ведению пациентов с диареей, вызванной лечением (Benson et al., 22, J. Clin. Oncol. 2918 (2004)), измененные для приведения в соответствии с протоколом исследования.

На фиг. 8 представлен график, показывающий ингибирование роста опухоли ксенотрансплантатов PA0165 путем введения Соединения А, ромидепсина или комбинации Соединения А и ромидепсина.

3/4 обозначает 3 дня введение и 4 дня лекарственных каникулы; Q4D обозначает один раз каждые 4 дня; Q7D обозначает один раз каждые 7 дней; — контроль; ---- Соединение А, 25 мг/кг, 3/4; - — - — ромидепсин, 1,5 мг/кг, Q4D×3; — — Соединение А, 25 мг/кг, 3/4, в комбинации с ромидепсином, 1,5 мг/кг, Q7D; — — — Соединение А, 25 мг/кг, 3/4, в комбинации с ромидепсином, 0,75 мг/кг, Q7D. Объемы опухолей нанесены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (SEM).

На фиг. 9 представлен график, показывающий кривую выживаемости ксенотрансплантатов PA0165 при введении Соединения А, ромидепсина или комбинации Соединения А и ромидепсина.

3/4 обозначает 3 дня введение и 4 дня лекарственных каникулы; Q4D обозначает один раз каждые 4 дня. — контроль; ---- Соединение А, 25 мг/кг, 3/4; ромидепсин, 1,5 мг/кг, Q4D×3; — — Соединение А, 25 мг/кг, 3/4, в комбинации с ромидепсином, 1,5 мг/кг, Q7D; — — — Соединение А, 25 мг/кг, 3/4, в комбинации с ромидепсином, 0,75 мг/кг, Q7D.

На фиг. 10 представлен график, показывающий ингибирование роста опухоли ксенотрансплантатов PA0165 при введении Соединения А, абраксана или комбинации Соединения А и абраксана.

— контроль; ---- Соединение А, 25 мг/кг; - — - — абраксан, 10 мг/кг; — — Соединение А, 25 мг/кг, в комбинации с абраксаном, 10 мг/кг; — — — Соединение А, 12,5 мг/кг, в комбинации с абраксаном, 10 мг/кг. Объемы опухолей нанесены на график в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (SEM).

На фиг. 11 представлен график, показывающий кривую выживаемости ксенотрансплантатов PA0165 при введении Соединения А, абраксана или комбинации Соединения А и абраксана.

— контроль; ---- Соединение А, 25 мг/кг; - — - — абраксан, 10 мг/кг; — — Соединение А, 25 мг/кг, в комбинации с абраксаном, 10 мг/кг; — — — Соединение А, 12,5 мг/кг, в комбинации с абраксаном, 10 мг/кг.

Подробное описание изобретения

Аспекты и варианты осуществления настоящего изобретения обеспечивают способы и фармацевтические композиции для лечения пациентов, имеющих рак и неопластическое заболевание; например пациентов, имеющих распространенные солидные опухоли, рецидивные или рефрактерные формы неходжкинской лимфомы, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, базальноклеточную карциному или другие типы рака. По меньшей мере в одном варианте осуществления предлагается способ лечения рака и неопластического заболевания, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества по меньшей мере одного ингибитора ВЕТ и терапевтически эффективного количества по меньшей мере одного химиотерапевтического агента. Химиотерапевтический агент может представлять собой алкилирующий агент, такой как темозоломид, или митотический ингибитор, такой как паклитаксел или паклитаксел в форме связанных с белком частиц.

Типичным ингибитором ВЕТ является 4-[2-(циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-он. В соответствии со способом введение ингибитора ВЕТ и химиотерапевтического агента может быть одновременным или последовательным.

По меньшей мере в одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ и химиотерапевтический агент комбинированной терапии вводят в единой фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления предлагается композиция, содержащая фармацевтически эффективное количество ингибитора ВЕТ и темозоломида, составленная в фармацевтически приемлемом носителе. В некоторых вариантах осуществления предлагается композиция, содержащая фармацевтически эффективное количество ингибитора ВЕТ и связанного с белком паклитаксела, составленная в фармацевтически приемлемом носителе. В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ и химиотерапевтический агент комбинированной терапии могут существовать в виде отдельных фармацевтических композиций, вводимых одновременно или последовательно. В другом варианте осуществления ингибитор ВЕТ и химиотерапевтический агент

представляют собой независимые фармацевтические композиции, которые смешивают перед введением (т.е. смешивают в фармацевтически приемлемом растворе для инъекции или инфузии). В еще одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ и химиотерапевтический агент представлены в виде отдельных фармацевтических композиций, упакованных вместе для введения (например, блистерная упаковка, содержащая пероральные составы, или упаковка, содержащая пероральную лекарственную форму и инъекционную лекарственную форму).

По меньшей мере в одном варианте осуществления введение ингибитора ВЕТ и химиотерапевтического агента приводит к синергическому ингибированию клеточной пролиферации или увеличению клеточной гибели (например, гибели опухолевых клеток) по сравнению с отдельным введением ингибитора ВЕТ или химиотерапевтического агента. Химиотерапевтический агент может представлять собой антипролиферативное или проапоптотическое соединение, и может быть выбран таким образом, чтобы проявлять синергический антипролиферативный или проапоптотический эффект при совместном введении с ингибитором ВЕТ. Комбинированное лечение ингибитором ВЕТ и химиотерапевтическим агентом может привести к синергическому противораковому эффекту или преодолеть развившуюся устойчивость. Синергические эффекты или преодоление развившейся устойчивости могут позволить уменьшить дозы, значительно снизить затраты на терапию у значительной популяции пациентов.

Следует понимать, что данное изобретение не ограничивается конкретной методологией, протоколами и реагентами, поскольку они могут изменяться. Терминология, используемая в настоящем документе, предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения объема настоящего изобретения, который ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

Используемые в настоящем описании и прилагаемой формуле изобретения термины в единственном числе включают множественные обозначения, если в контексте ясно не указано иное. Термин "или" является включительным, если только он не изменен, например, термином "либо". За исключением рабочих примеров, или если указано иначе, все числа, выражающие количества ингредиентов или условия реакции, используемые в настоящем документе, следует понимать как модифицированные во всех случаях термином "примерно". Термин "примерно" при использовании вместе с процентами может означать $\pm 1\%$. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют те же значения, которые обычно понимаются специалистом в данной области, к которой относится настоящее изобретение.

Все идентифицированные патенты и другие публикации включены в настоящий документ посредством ссылки с целью описания и раскрытия, например методологий, описанных в таких публикациях, которые могут быть использованы в настоящем изобретении, но не должны содержать определения терминов, не согласующихся с терминами, представленными в настоящем документе. Эти публикации представлены исключительно для их раскрытия до даты подачи заявки на данное изобретение. Ничто в связи с этим не должно толковаться как признание того, что заявители не вправе датировать задним числом такое раскрытие на основании более раннего изобретения или иных оснований. Все положения в отношении даты или утверждения, касающегося содержания этих документов, основаны на информации, доступной заявителю, и не составляют любое допущение в отношении правильности дат или содержания данных документов.

По меньшей мере в одном варианте осуществления предлагается способ лечения рака с помощью комбинированной терапии, включающей введение ингибитора бромодомена и экстратерминального (ВЕТ) белка, и химиотерапевтического агента. Например, ингибитор ВЕТ может представлять собой ингибитор бромодомена, такой как 4-[2-(циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-он (соединение А); и химиотерапевтический агент может представлять собой темозоломид (4-метил-5-оксо-2,3,4,6,8-пентазабицикло[4.3.0]нона-2,7,9-триен-9-карбоксамид), связанный с белком паклитаксел (например, ABRAXANE®) или ромидепсин, (1S,4S,7Z,10S,16E,21R)-7-этилиден-4,21-диизопропил-2-окса-12,13-дитиа-5,8,20,23-тетразабицикло[8.7.6]трикос-16-ен-3,6,9,19,22-пентон).

Таким образом, в иллюстративном варианте осуществления предлагается комбинированная терапия, включающая Соединение А и темозоломид. В другом иллюстративном варианте осуществления предлагается комбинированная терапия, включающая Соединение А и связанный с белком паклитаксел. И в еще одном иллюстративном варианте осуществления предлагается комбинированная терапия, включающая Соединение А и ромидепсин. Как описано более подробно в настоящем документе, Соединение А является мощным и обратимым ингибитором эпигенетических белков ВЕТ. Удивительным образом было обнаружено, что комбинированная терапия, включающая введение ингибитора ВЕТ (например, Соединения А) и химиотерапевтического агента (например, темозоломида, связанного с белком паклитаксела или ромидепсина), демонстрирует синергические терапевтические эффекты.

По меньшей мере в одном варианте осуществления предлагается лечение субъектов, имеющих рак, в частности распространенные солидные опухоли или рецидивные/рефрактерные формы NHL, включающее введение фармацевтического состава, содержащего ингибитор ВЕТ и химиотерапевтический агент, такой как алкилирующий агент (темозоломид) или митотический ингибитор (такой как связанный

с белком паклитаксел). Например, ингибитор ВЕТ может представлять собой ингибитор бромодомена, такой как Соединение А. Конкретный пример относится к оценке безопасности, переносимости, фармакокинетики и предварительной эффективности Соединения А у субъектов-людей.

В настоящих вариантах осуществления предлагаются способы и композиции, такие как фармацевтические составы, которые обеспечивают терапевтическую пользу при лечении типов рака, таких как распространенные солидные опухоли или рецидивные/рефрактерные формы NHL, например, DLBCL или iNHL. Дополнительные примеры типов рака, связанных с солидными опухолями, включают фибросаркому, миксосаркому, липосаркому, хондросаркому, остеобластическую саркому, хордому, ангиосаркому, эндотелиосаркому, лимфангиосаркому, лимфангиоэндотелиосаркому, синовиому, мезотелиому, опухоль Юинга, лейомиосаркому, рабдомиосаркому, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак почки, рак поджелудочной железы, рак костей, рак молочной железы, рак яичников, рак предстательной железы, рак пищевода, рак желудка, рак полости рта, рак носа, рак горла, плоскоклеточный рак, базальноклеточную карциному, аденокарциному, карциному потовых желез, карциному сальной железы, папиллярную карциному, папиллярную аденокарциному, цистаденокарциному, медуллярную карциному, бронхогенную карциному, почечно-клеточную карциному, гепатому, карциному желчных протоков, хориокарциному, семиному, эмбриональную карциному, опухоль Вильмса, рак шейки матки, рак матки, рак яичка, мелкоклеточную карциному легких, карциному мочевого пузыря, рак легкого, эпителиальную карциному, глиому, мультиформную глиобластому, астроцитому, медуллобластому, краниофарингеому, эпендимому, пинеалому, гемангиобластому, невриному слухового нерва, олигодендроглиому, менингиому, рак кожи, меланому, нейробластому и ретинобластому.

Термины "субъект" или "пациент", используемые в настоящем документе, относятся к любому субъекту, в частности субъекту-млекопитающему, к которому относится диагноз, прогноз или терапия рака, такого как солидная опухоль или рецидивная/рефрактерная форма NHL (например, диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (DLBCL) или невыраженная NHL (iNHL)). Термины "субъект" или "пациент" могут включать любого человека или животное, отличное от человека, как указывает контекст.

В настоящем документе термины "лечить", "временное облегчение", "уменьшение интенсивности заболевания", "терапия" или "лечение ..." (например, в выражении "лечение пациента, имеющего распространенную солидную опухоль или рецидивную/рефрактерную форму NHL) используются взаимозаменяемо и относятся, в целом, к терапевтической или профилактической пользе, например снижению вероятности возникновения заболевания, уменьшению возникновения заболевания или снижению тяжести заболевания. Например, лечение может относиться к способности терапии, в случае введения субъекту, предотвращать дальнейший рост опухоли или злокачественности или излечивать или облегчать, по меньшей мере частично, симптом, признак или причину заболевания. Лечение также относится к смягчению или уменьшению по меньшей мере одного клинического симптома, или ингибированию или задержке прогрессирования состояния, или предупреждению или задержке начала заболевания или болезненного состояния. Таким образом, термины "лечить", "лечение" или "терапия ..." (или грамматически эквивалентные термины) относятся как к профилактическим, так и терапевтическим режимам лечения. Эти термины относятся к подходу для получения полезных или желаемых результатов, включая, но без ограничения, терапевтическую пользу или профилактическую пользу. Под "терапевтической пользой" понимают устранение или уменьшение интенсивности основного расстройства, подвергаемого лечению. Также терапевтическая польза достигается путем устранения или уменьшения интенсивности одного или более физиологических симптомов, связанных с основным расстройством, таким образом, что у пациента наблюдается улучшение, несмотря на то, что пациент все еще может быть поражен основным расстройством. Для профилактической пользы композиции могут быть введены пациенту, имеющему риск развития конкретного заболевания, или пациенту с подтвержденным одним или более чем одним физиологическим симптомом заболевания, даже если диагноз этого заболевания не поставлен.

Соответственно, "терапевтический агент", используемый в настоящем документе, относится к любому терапевтически активному веществу, которое вводят субъекту для получения желаемого, обычно благоприятного эффекта. Термин "терапевтический агент" включает, например, классические низкомолекулярные терапевтические агенты, обычно называемые низкомолекулярными лекарственными средствами; и биологические препараты, включающие, но без ограничения, антитела или их функционально активные фрагменты, пептиды, липиды, лекарственные средства на основе белков, конъюгаты лекарственных средств с белками, белки слияния, ферменты, нуклеиновые кислоты, рибозимы, генетический материал, вирусы, бактерии, эукариотические клетки и вакцины. Терапевтический агент также может представлять собой пролекарство. Терапевтический агент также может представлять собой радиоактивный изотоп. Терапевтический агент может представлять собой агент, активированный формой энергии, такой как световая или ультразвуковая энергия, или активированный другими циркулирующими молекулами, которые можно вводить системно или локально. Кроме того, терапевтический агент может быть составлен фармацевтически.

Ссылки на "фармацевтический агент", "терапевтический агент", "фармацевтически активный", "фармацевтический", "лекарственное средство", "лекарственный препарат", "активный агент", "активное

лекарственное средство", "активный фармацевтический ингредиент" и т.п. относятся в общем смысле к веществам, полезным в медицинских и научных областях, включая, например, лекарственные средства, биологические препараты, диагностические агенты (например, красители или контрастные агенты) или другие вещества, используемые в терапевтических, диагностических или профилактических (например, вакцины), или исследовательских целях. Примеры фармацевтических агентов включают малые молекулы, химиотерапевтические агенты, контрастные агенты, анестезирующие средства, интерферирующие РНК, генные векторы, биологические препараты, иммуногены, антигены, интерфероны, препараты поликлональных антител, моноклональные антитела, инсулины или комбинации любого из них. Как отмечалось, фармацевтическая композиция или фармацевтический состав может содержать один или несколько активных терапевтических агентов, или комбинацию активных и диагностических агентов и т.д., обычно дополнительно содержащую подходящее вспомогательное вещество(а).

"Неактивные" вещества относятся к носителям, вспомогательным веществам, разбавителям и т.п., хорошо известным в данной области, при этом эти вещества могут выполнять полезную функцию в смешанном инъекционном препарате, например, в качестве поверхностно-активного вещества, неорганической или органической соли, стабилизатора, разбавителя, солюбилизатора, восстанавливающего агента, антиоксиданта, хелатирующего агента, консерванта, адъюванта, изотонического или буферного агента или любого вспомогательного вещества, обычно используемого в фармацевтических композициях (т.е. "фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество"), и т.п. Эти активные или неактивные вещества могут также включать вещества, обладающие характеристиками немедленного, отсроченного, контролируемого или замедленного высвобождения.

"Фармацевтический состав", "состав" или "фармацевтическая композиция" относится к лекарственному препарату, который включает по меньшей мере один активный агент и может, кроме того, включать по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, носитель, буфер, стабилизатор или другой материал, хорошо известный специалистам в данной области. Например, типичный фармацевтический состав для инъекций включает подходящий для парентерального введения водный раствор, который не содержит пирогенов и обладает подходящим значением pH, изотоничностью и стабильностью. Фармацевтические композиции могут иметь диагностическую, терапевтическую или исследовательскую пользу у различных видов, например у человеческих пациентов или субъектов. По меньшей мере в одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит ингибитор ВЕТ и химиотерапевтический агент, такой как темозоломид, связанный с белком паклитаксел или ромидеписин. Например, ингибитор ВЕТ может представлять собой 4-[2-(циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-он (соединение А). Агенты и композиции, описанные в настоящем документе, могут быть составлены с помощью любого общепринятого способа с использованием одного или нескольких фармацевтически приемлемых носителей или вспомогательных веществ, как описано в общепринятой литературе. См., например, Remington - Science & Practice of Pharmacy, 22nd edition (Lloyd, ed., Pharmaceutical Press, London, UK, 2012). Такие составы содержат терапевтически эффективное количество активного агента(ов), описанного в настоящем документе, предпочтительно в очищенной форме, вместе с подходящим количеством носителя, чтобы, таким образом, обеспечить форму для надлежащего введения субъекту.

"Пролекарство" означает соединение, которое может быть преобразовано в физиологических условиях или путем сольволиза в биологически активное соединение, описанное в настоящем документе. Таким образом, термин "пролекарство" относится к предшественнику биологически активного соединения, которое является фармацевтически приемлемым. Пролекарство может быть неактивным при введении субъекту, но преобразовано *in vivo* в активное соединение, например, путем гидролиза. Пролекарственное соединение часто имеет преимущества в растворимости, тканевой совместимости или замедленном высвобождении в организме млекопитающих. Термин "пролекарство" также включает любые ковалентно связанные носители, которые высвобождают *in vivo* активное соединение при введении такого пролекарства субъекту-млекопитающему. Пролекарства активного соединения могут быть получены путем модификации функциональных групп, присутствующих в активном соединении, таким образом, чтобы такие модификации расщеплялись либо путем обычной манипуляции, либо *in vivo*, обеспечивая исходное активное соединение. Пролекарства включают соединения, в которых гидроксил, амино или меркаптогруппа связана с любой группой таким образом, чтобы при введении пролекарства активного соединения субъекту-млекопитающему она отщеплялась с образованием свободной гидроксильной, свободной аминогруппы или свободной меркаптогруппы. Примеры пролекарств включают, но без ограничения, ацетатные, формиатные и бензоатные производные спиртовых или амино-функциональных групп в активных соединениях. См., например, Design of Prodrugs, at 7-9, 21-24 (Bundgaard, Ed., Elsevier, Amsterdam, 1985). Например, темозоломид является пролекарственным производным имидазотетразина алкилирующего агента дакарбазина.

Фармацевтический состав может включать терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного активного агента. Такие эффективные количества могут быть легко определены специалистом в данной области на основе, отчасти, эффекта введенной лекарственной формы или комбинированного эффекта агента и одного или более дополнительных активных агентов, в случае применения более

чем одного агента. Терапевтически эффективное количество активного агента может также варьироваться в зависимости от таких факторов, как патологическое состояние, возраст, пол и вес индивидуума, а также способности агента (и одного или более дополнительных активных агентов) вызывать желательную реакцию у индивидуума, например улучшение по меньшей мере одного параметра состояния. Например, терапевтически эффективное количество лекарственной формы может ингибировать (уменьшать тяжесть или предотвращать возникновение), предупреждать возникновение конкретного нарушения или уменьшать любой из симптомов конкретного нарушения, известного в данной области или описанного в настоящем документе. Терапевтически эффективное количество также может представлять собой такое количество, при котором любые токсичные или вредные эффекты активного агента или лекарственной формы перевешиваются терапевтически благоприятными эффектами.

Таким образом, активный агент можно вводить субъекту в виде монотерапии, или в виде комбинированной терапии с другим активным агентом в комбинированной лекарственной форме, или в качестве дополнительного лечения, например другого лечения того же самого, связанного или дополнительного нарушения. Например, ингибитор ВЕТ может быть комбинирован с химиотерапевтическим агентом, таким как темозоломид или связанный с белком паклитаксел, в одном и том же составе или в другом составе, вводимом одновременно или последовательно. Кроме того, комбинированная терапия может включать введение субъекту (например, пациенту-человеку) одного или более агентов (например, антибиотиков, антикоагулянтов, антигипертензивных средств или противовоспалительных лекарственных средств), которые обеспечивают терапевтическую пользу субъекту. В другом примере комбинированная терапия может включать введение субъекту ингибитора ВЕТ, темозоломида или комбинации, содержащей ингибитор ВЕТ и темозоломид и один или более дополнительных агентов, которые обеспечивают терапевтическую пользу для субъекта, имеющего рак, такой как распространенная солидная опухоль или рецидивная/рефрактерная форма NHL. Аналогичным образом, в другом примере комбинированная терапия может включать введение субъекту ингибитора ВЕТ, связанного с белком паклитаксела или комбинацию, содержащую ингибитор ВЕТ и паклитаксел и один или более дополнительных агентов, которые обеспечивают терапевтическую пользу для субъекта, имеющего рак. Аналогичным образом, в еще одном примере комбинированная терапия может включать введение субъекту ингибитора ВЕТ, ромидепсина или комбинации, содержащей ингибитор ВЕТ и ромидепсин и один или более дополнительных агентов, которые обеспечивают терапевтическую пользу для субъекта, имеющего рак. В некоторых вариантах осуществления активный агент и один или более дополнительных активных агентов вводят в единой лекарственной форме, например фармацевтической композиции, содержащей ингибитор ВЕТ и темозоломид, паклитаксел или ромидепсин. В других вариантах осуществления активный агент вводят первым во времени и дополнительный активный агент(ы) вводят вторым во времени. В некоторых вариантах осуществления один или более дополнительных активных агентов вводят в одно и то же время, но с использованием различных устройств для доставки лекарственного средства или режимов доставки, например проведение комбинированной терапии, включающей введение ингибитора ВЕТ и темозоломида, или включающей введение ингибитора ВЕТ и паклитаксела, или включающей введение ингибитора ВЕТ и ромидепсина. По меньшей мере в одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ представляет собой 4-[2-(циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-он (соединение А).

Введение ингибитора ВЕТ или ингибитора ВЕТ и химиотерапевтического агента в качестве комбинированной терапии, описанной в настоящем документе, может заменить или усилить предшествующую или текущую терапию. Например, при лечении одним фармацевтическим составом введение дополнительного активного агента(ов) можно прекратить или уменьшить, например вводить при более низких концентрациях или с более длинными интервалами между введениями. В некоторых вариантах осуществления введение предшествующей терапии может быть сохранено. В некоторых вариантах осуществления предшествующую терапию поддерживают до тех пор, пока уровень активного агента не достигнет уровня, достаточного для обеспечения терапевтического эффекта. Таким образом, две терапии можно вводить в комбинации, последовательно или одновременно.

По меньшей мере в одном варианте осуществления комбинированная терапия, включающая введение ингибитора ВЕТ и химиотерапевтического агента, обладает аддитивным эффектом по сравнению с терапией, включающей отдельное введение ингибитора ВЕТ или химиотерапевтического агента. В других вариантах осуществления введение ингибитора ВЕТ и химиотерапевтического агента в комбинированной терапии имеет синергический эффект по сравнению с терапией, включающей отдельное введение ингибитора ВЕТ или химиотерапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия, включающая введение ингибитора ВЕТ и химиотерапевтического агента, уменьшает побочные эффекты по сравнению с терапией, включающей отдельное введение ингибитора ВЕТ или химиотерапевтического агента или отдельное введение одного или более других агентов. Например, комбинированная терапия, включающая введение Соединения А и темозоломида, паклитаксела или ромидепсина, приводила к синергическому терапевтическому результату.

Терапевтическая польза необязательно означает излечение от конкретного вида рака (например, распространенной солидной опухоли или рецидивной/рефрактерной формы NHL), а скорее означает результат, чаще всего включающий облегчение; увеличение выживаемости; устранение опухоли; ослабле-

ние симптома, связанного с раком; предупреждение или ослабление вторичного заболевания, нарушения или состояния, обусловленного возникновением рака; или предупреждение возникновения метастазов. Распространенные солидные опухоли включают неоперабельные солидные опухоли. Рецидивные или рефрактерные формы NHL включают DLBCL и iNHL.

По меньшей мере в одном варианте осуществления, описанном в настоящем документе, патологическое состояние подвергнутого лечению субъекта (например, распространенная солидная опухоль или рецидивная/рефрактерная форма NHL) связано с эпигенетикой или эпигенетическим состоянием субъекта. Эпигенетика относится, в целом, к вариациям клеточных и физиологических фенотипических признаков, в которых внешние факторы или факторы окружающей среды в большей степени влияют на экспрессию генов, чем на изменения в последовательности ДНК *per se*. Другими словами, в отличие от генетики, основанной на изменениях последовательности ДНК (генотипа), изменения в экспрессии генов или клеточный фенотип эпигенетики имеет другие причины. Например, метилирование ДНК и посттрансляционные модификации нуклеосомных гистоновых белков изменяют организацию хроматина и генную экспрессию без изменения исходной последовательности ДНК. Таким образом, эпигенетическая модификация может оказывать влияние в случае, если или где происходит экспрессия специфических генов, позволяющая клетке регулировать дифференциальную экспрессию генов обратимо и селективно. Chaidos et al., 6, *Ther. Adv. Nematol.* 128 (2015). Эпигенетическая модификация представляет собой динамический и обратимый процесс, записанный, удаленный и прочитанный семействами ферментов: "самописцы" ковалентно присоединяют ацетильные или металльные группы; "старатели" удаляют эти группы; и "ридеры" распознают и связываются с этими группами. Arrowsmith et al., 11, *Nature Rev. Drug Discov.* 384 (2012). Иницирование и прогрессирование рака все чаще связывают с неправильным чтением, неправильным написанием или неправильным стиранием этих модификаций. Chi et al., 10, *Nature Rev. Cancer*, 457 (2010).

Бромодомен и экстратерминальные (BET) белки представляют собой группу эпигенетических "читателей", которые играют ключевую роль в эпигенетическом процессе и действительно могут контролировать экспрессию генов, участвующих в клеточном росте и онкогенезе. Wyse, 4, *Oncotarget* 2419 (2013a). Посттрансляционное ацетилирование N-концевых хвостов нуклеосомных гистонов представляет фундаментальную эпигенетическую метку открытой структуры хроматина и активной транскрипции гена. Члены семейства белков BET отличаются высокомолекулярными тандемными бромодоменами (BD-1 и BD-2), которые узнают и связывают эти ацетилированные лизины на гистоновых "хвостах". Затем белки BET действуют в качестве каркасов, которые рекрутируют факторы транскрипции, и организаторов хроматина, которые необходимы для транскрипции. Например, посредством набора водород-связывающих взаимодействий между высококонсервативными остатками аспарагина и тирозина и ацетилированным лизином бромодомены BET связывают хроматин с CDK9-содержащим комплексом P-TEFb, который фосфорилирует крупную субъединицу РНК-полимеразы II и способствует высвобождению паузы и удлинению транскрипта. Chaidos et al., 2015.

Семейство BET включает четыре белка: BRD2, BRD3, BRD4 и BRDT. Dawson et al., *New Engl. J. Med.* 367 (2012); Jenuwein & Allis, 293, *Science*, 1074 (2001). BRDT обнаруживается исключительно в зародышевых клетках, но BRD2, BRD3 и BRD4 являются повсеместными в зародышевых и соматических клетках. Chaidos et al., 2015. BRD4 (содержащий бромодомен протеин-4) действует как транскрипционный корегулятор, который связывается с карманами ацетилирования s-N-лизина на хвостах гистонов H3 и H4; где он может регулировать экспрессию генов путем рекрутинга дополнительных белков в его сайты связывания хроматина, тем самым влияя на структуру и функцию хроматина. Jacobson et al., 288, *Science*, 1422 (2000). Кроме того, BRD4 связывается преимущественно в гиперацетилированных областях промотора супер-энхансера и регулирует транскрипцию генов-мишеней путем рекрутинга комплексов коактиваторов или коэкспрессоров. Jung et al., 12, *J. Neuroinflammation*, 1 (2015); Junwei & Vakoc, 54 *Molec. Cell* 728 (2014); Jenuwein & Allis, 2001.

Кроме того, дерегулирование белка BET наблюдалось в нескольких опухолевых заболеваниях. Например, редкая агрессивная эпителиальная опухоль (ядерный белок при карциноме средней линии яичка (NUT)) управляется слияниями белка NUT с BRD3 или BRD4; и ингибиторы BET показали доклиническую активность в этой опухоли. Filippakopoulos & Knapp, 2010; French, 203, *Cancer Genet. & Cytogenet.* 16 (2010). Dereгулирование BRD4 также возникает при лейкозе, гепатоцеллюлярной карциноме и раке молочной железы. Zuber et al., 478, *Nature*, 524 (2011); Li et al., 7, *Oncotarget*, 2462 (2015). Кроме того, сверхэкспрессия BRD2 и BRD4 была продемонстрирована в клетках глиобластомы, и ингибирование BET I-BET-151 (GSK1210151A) показало активность в ксенотрансплантатах мультиформной глиобластомы (GBM), сравнимую с темозоломидом. Pastori et al., 9, *Epigenetics*, 611 (2014). Отдельно, ингибирование BET подавляло онкогенный транскрипционный фактор FOSL1 и его мишени в клеточной линии аденокарциномы легкого. Lockwood et al., 109, *PNAS*, 19408 (2012).

Было также показано, что BRD4 контролирует экспрессию генов, участвующих в клеточном росте и онкогенезе, таких как MFC, FOSL1 и GLI1. Shi et al., 25, *Cancer Cell*, 210 (2014); Filippakopoulos & Knapp, 13, *Nature Rev.* 337 (2014). Связывание BRD-содержащих комплексов в сайтах супер-энхансера часто локализуется в промоторные области ключевых факторов транскрипции, таких как онкоген c-MYC, ко-

торый активирован почти в 70% всех видов рака. Nilsson & Cleveland, 22, *Oncogene*, 9007 (2003); Whyte et al., 153, *Cell*, 307 (2013); Loven et al., 153, *Cell*, 320 (2013). Ингибиторы BET разрушают эти комплексы, снижают экспрессию MYC и показали активность в ксенотрансплантатах человеческих MYC-управляемых гематологических и солидных опухолей. Mertz et al., 108, *PNAS*, 16669 (2011); Puissant et al., 3, *Cancer Discov.* 308 (2013); Shimamura et al., 19, *Clin. Cancer Res.* 6183 (2013); Wyce et al., 8, *PLoS One* e72967 (2013b); Bandopadhyay et al., 20, *Clin. Cancer Res.* 912 (2014); Hu et al. 16, *Int. J. Mol. Sci.* 1928 (2015); Li et al., 2015; Mazur et al., 21, *Nat. Med.* 116 (2015).

Более того, активность наблюдалась в клинических исследованиях ингибитора BET в рефрактерной/резистентной лимфоме и лейкемии. Dombret et al., *ASH 2014, Abstract* 117. Таким образом, BRD4 может играть роль в транскрипции многих генов, и ингибирование BRD4 может потенциально снижать экспрессию этих транскрибированных генов, включая гены, вовлеченные в устойчивость к лекарственным средствам, таким как лекарственные помпы. Примерами генов, вовлеченных в устойчивость к лекарственным средствам/терапии, являются белок множественной лекарственной устойчивости (Р-гликопротеин, MDR1), белок транспортера с множественной лекарственной устойчивостью (MRP1, ABCC1), белок устойчивости к раку груди (BCRP, MXR, ABCG2) и глутатион (GSH).

Белки BET, по-видимому, также играют роль в эпителиально-мезенхимальном переходе (EMT) и развитии раковых стволовых клеток (CSC). Эпителиально-мезенхимальный переход связан с прогрессированием и метастазами многих карцином, и, как представляется, существует корреляция между EMT, резистентностью к химиотерапии и возникновением CSC. Thiery, 2 *Nat. Rev. Cancer* 442 (2002); Thiery, 15 *Curr. Opin. Cell Biol.* 740 (2003); Huber et al., 17 *Curr. Opin. Cell Biol.* 548 (2005); Mani et al., 133 *Cell* 704 (2008); Castellanos et al., 6 *OncoTargets Ther.* 1261 (2013); Satoh et al., 50 *J. Gastroenterol.* 140 (2015). CSC имеют неограниченную пролиферацию и могут самообновляться, дифференцироваться в другие типы клеток и образовывать опухоли у иммунодефицитных мышей. Castellanos et al., 2013. Действительно, CSC могут быть ответственными за инициирование опухоли, прогрессирование, рецидив и метастазы, а также гетерогенность опухолей и устойчивость к лечению. Sheridan et al., 8 *Breast Cancer Res.* R59 (2006); Campbell & Polyak, 6 *Cell Cycle* 2332 (2007); Li et al., 100 *J. Natl. Cancer Inst.* 672 (2008); Zhu et al., 32 *Clin. Translat. Med.* 1 (2014); Dawood et al., 28 *Oncol. J.* 1101 (2014). CSC были идентифицированы в лейкозах, карциномах груди (особенно базально-подобном раке молочной железы), толстой кишки, GBM, головы и шеи, печени, легких, меланоме, карциноме поджелудочной железы и предстательной железы. Fang et al., 65 *Cancer Res* 9328 (2005); Ma et al., 132 *Gastroenterol.* 2542 (2007); Tang et al., 21 *FASEB J.* 3777 (2007); Eppert et al., 17 *Nature Med.* 1086 (2011); Lathia et al., 29 *Genes & Devel.* 120 (2015).

Кроме того, что касается EMT, фактор транскрипции Twist был идентифицирован в качестве ключевого активатора EMT. Wu & Donohoe, 2 *RNA Dis.* 1 (2016). Twist содержится на высоких уровнях как в агрессивных раковых клетках поджелудочной железы с высоким метастатическим потенциалом, так и в CSC рака молочной железы. Mani et al., 2008; Von Burstin et al., 137 *Gastroenterol.* 361 (2009). Важно отметить, что BRD4 связывается с Twist, и это взаимодействие Twist/BRD4 вызывает онкогенность и инвазию в BLBC. Shi, (2014). Однако ингибиторы BET могут блокировать это взаимодействие Twist-BRD4 и ингибировать рост в модели ксенотрансплантата базально-подобного рака молочной железы. Работа, касающаяся колоректальной карциномы, поддерживает ключевую роль BRD4 в EMT: ингибитор BRD4, MS417, ингибировал пролиферацию, миграцию и инвазию клеток толстой кишки; нарушал рост в модели ксенотрансплантата CRC; и подавлял развитие метастазов в печени. Hu et al., 16 *Int. J. Mol. Sci.* 1928 (2015).

Кроме того, белки BET являются важными регуляторами пути Hedgehog (Hh), который активируется в CSC. Varnat et al., 1 *EMBO Mol. Med.* 338 (2009); Amakye, 19 *Nature Med.* 1410 (2013); Tang et al., 2014; Infante et al., 36 *Trends Pharma. Sci.* 54 (2015). Путь Hh является ключевым регулятором роста и дифференцировки клеток во время эмбриогенеза, но обычно является неактивным в тканях взрослого человека. Ingham & McMahon, 15 *Genes & Devel.* 3059 (2001); Von Hoff et al., 361 *New Engl. J. Med.* 1164 (2009). Аберрантная активация этого пути вовлечена в онкогенез различных видов рака, таких как медуллобластома, рабдомиосаркома и почти все BCC. Xie et al., 391 *Nature* 90 (1998); Epstein, 8 *Nature Rev.* 743 (2008); Teglund & Toftgard, 1805 *Biochim. Biophys. Acta* 181 (2010). Сверхэкспрессия лиганда Hh также наблюдалось в опухолях молочной железы, колоректальных опухолях, опухолях пищевода, легкого, желудка, поджелудочной железы и предстательной железы. Teglund & Toftgard, 2010.

Кроме того, аберрантная передача сигнала Hh активирует рецептор Smoothed (SMO), который в свою очередь повышает транскрипционную активность связанного с глиомой онкогенного гомолога 1 (GLI1). Транскрипция GLI1 в остальном не зависит от передачи сигналов Hh, управляемая фактором роста-бета и KRAS. GLI1-управляемая транскрипция способствует прогрессированию рака поджелудочной железы. Nolan-Stevaugh et al., 23 *Genes & Devel.* 24 (2009). BRD4 и другие белки BET регулируют транскрипцию GLI1 ниже SMO. В частности, BRD4 напрямую занимает промоторы GLI1 и GLI2. Tang et al., 20 *Nature* 732 (2014). Это заполнение может быть ингибировано с помощью ингибиторов BET, таким образом, предлагая мишень в Hh-управляемых опухолях, несмотря на зависимость от активации SMO. Следует отметить, что ингибитор BET, JQ1, уменьшал пролиферацию опухолевых клеток *in vitro* и *in vivo* в Hh-управляемых опухолях, включая опухоли, устойчивые к антагонистам SMO. Tang et al., 2014.

Другой ингибитор ВЕТ, I-BET-151, подавлял Hh-зависимый рост медуллобластомы *in vitro* и *in vivo* и подавлял SMO-независимую активацию Hh-пути *in vitro*. Long et al., 289 *J. Biol. Chem.* (2014).

Аберрантная передача сигнала Hh также возникает в 95% базальноклеточных карцином (BCC). Migden et al., 16 *Lancet Oncol.* 716 (2015). BCC является распространенным раком во всем мире, и заболеваемость им увеличивается. Rubin, 353 *New Engl. J. Med.* 2262 (2005); *Am. Cancer. Soc, Skin Cancer Facts, via ACS website, 2015.* Согласно оценкам, два-три миллиона раковых заболеваний, не связанных с меланомой, появляется в мире каждый год, и приблизительно 80% являются BCC. *World Health Organization, Ultraviolet radiation & the INTERSUN Programme website, (2015); ACS, 2015.* Это, вероятно, недооценивается, потому что в Соединенных Штатах, где реестр лучше документируется, чем в большинстве стран, согласно оценкам, ежегодно более 3,5 миллионов новых пациентов диагностируются с немеланомным раком кожи. Кроме того, заболеваемость в Европе увеличивается на 100000 человек в год. *ACS, 2015; Rubin et al., 2005; Lomas et al., 166 Br. J. Dermatol.* 1069 (2012).

Большинство BCC можно вылечить с помощью местной терапии, хирургии или лучевой терапии или их комбинации. *NCCN, guidelines; Trakatelli et al., 24 Eur. J. Dermatol.* 312 (2014). Тем не менее небольшая часть прогрессирует или присутствует, является местно распространенной или менее 1% метастатического BCC, который не поддается такой терапии. *Alonso et al., 20 JEADV* 735 (2006); *Danial et al., 169 Br. J. Dermatol.* 673 (2013); *Sekulic et al., 366 New Engl. J. Med.* 2171 (2013); *Bassett-Seguin et al., 16 Lancet Oncol.* 729 (2015). Распространенная BCC часто вызывает значительное уродство и заболеваемость в комплексе со связанными физическими и психологическими проблемами, поскольку чаще всего появляется в зонах, подверженных воздействию солнца, таких как голова. *Wong et al., 327 Br. J. Med.* 794 (2003). Лечение распространенных и метастатических случаев вызывало трудности до появления ингибиторов Hh.

В BCC аберрантный путь передачи сигналов Hh инициируется, когда внеклеточный белок Hh связывается с трансмембранным рецептором Patched (PTCH1) и высвобождает трансмембранный белок SMO. *Ingham, 15 Genes & Devel.* 3059 (2001); *Rubin et al., 2006.* Передача сигнала белком SMO мобилизует обычно латентный фактор транскрипции GLI2 цинкового пальца, который транскрибирует промотор GLI1. *Huangfu & Anderson, 102 PNAS* 11325 (2005); *Haucraft et al., 1 PLoS Genet* 48 (2005); *Liu et al., 132 Devel.* 3103 (2005). GLI1 и GLI2 напрямую активируют транскрипцию генов-мишеней Hh, включая некоторые, вовлеченные в рост клеток, такие как MYCN и CCND1. *Daya-Grosjean & Couvé-Privat, 225 Cancer Lett.* 181 (2005); *Scales, 30 Trends Pharma Sci.* 303 (2009); *Oliver et al., 100 PNAS* 7331 (2003); *Tang et al., 2014.* Кроме того, GLI1 амплифицирует передачу сигнала Hh путем активации транскрипции GLI2 в петле с положительной обратной связью. *Regl et al., 21 Oncol.* 5529 (2002).

Кроме того, мутации PTCH1 и SMO были идентифицированы в синдроме базально-клеточного невуса и спорадических BCC. *Hahn, 1996; Gailani, 1996; Uden, 1997; Xie, 1998.* В 80-90% случаев BCC мутации вызывают потерю функции PTCH1, который обычно ингибирует сигнальную активность SMO. *Alcedo, 1996; Hahn et al., 85 Cell* 841 (1996); *Johnson et al., 272 Science* 1668 (1996); *Bassett-Seguin, 2015.* Другие 10% случаев BCC обусловлены конститутивной активацией SMO. *Xie, 1998; Bassett-Seguin et al., 16 Lancet Oncol.* 729 (2015); *Reifenberger et al., 152 Br. J. Dermatol.* 43 (2005). Эти мутации вызывают конститутивную передачу сигналов Hh и конечная экспрессия GLI1 в базальных клетках связана с развитием BCC. *Dahmane et al. 389 Nature* 876 (1997); *Von Hoff et al., 361 New Engl. J. Med.* 1164 (2009). Соответственно, были разработаны агенты, способные ингибировать SMO.

Erivedge® (висмодегиб) напрямую связывается и ингибирует SMO и, следовательно, уменьшает образование GLI1. *LoRusso et al., 17 Cancer Res* 2502 (2011); *Sekulic et al., 2012; Von Hoff et al., 2009.* См., например, Erivedge (висмодегиб) *Eur. PAR (Grenzach-Wyhlen, Germany, Roche Pharma AG, 2015),* доступный в режиме онлайн на веб-сайте EMA Европа. Висмодегиб направленно воздействует на BCC, связанные с конститутивно активированными мутациями SMO и с мутациями PTCH1. Несмотря на то, что по данным независимого анализа частота ответа метастатической BCC на висмодегиб составила 30,3% и местно распространенной BCC у субъектов, для которых хирургическая операция или лучевая терапия была неприемлемой, составила 42,9%, средняя продолжительность ответа составила всего лишь 7,6 месяцев и у двух третей подвергнутых лечению субъектов ответ отсутствовал. Недавний анализ для оценки безопасности с периодом последующего наблюдения, составляющим по меньшей мере 12 месяцев, показал, что у 36% субъектов было отменено лечение висмодегибом из-за нежелательных явлений и у дополнительных 10% по просьбе субъекта. *Bassett-Seguin et al., 2015.*

Odomzo® (сонидегиб), еще один ингибитор SMO, по данным независимого исследования частота ответа местно распространенной BCC составляет 58%, и ответы кажутся более продолжительными, при этом согласно оценкам исследователя ответ 60% местно распространенной BCC длится по меньшей мере шесть месяцев. *Migden et al., 2015.* Однако 28% субъектов прекратили лечение, и у 32% субъектов доза была скорректирована из-за возникновения нежелательных реакций. В настоящее время из-за продолжительности ответов и толерантности к ингибиторам SMO значительное количество субъектов остается с неудовлетворенной потребностью в медицинской помощи. См., например, *Odomzo (sonidegib), European PAR (Nuremberg, Germany, Novartis Pharma GmbH, 2015),* доступный в режиме онлайн на веб-сайте EMA

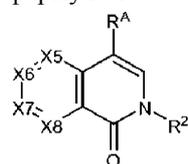
Еуропа.

Важно, что около 20% типов рака ВСС развивают устойчивость. Ridky & Cotsarelis, 27 Cancer Cell 315 (2015). Как правило, это связано с реактивацией пути Hh посредством мутаций SMO, присутствующих только в 15-33% ВСС, не подвергнутых лечению, по сравнению с 69%-77% резистентных ВСС. Мутации SMO препятствуют карману связывания с лекарственным средством, повышают базальную активность SMO или действуют путем одновременного изменения числа копий в супрессоре слитого белка (SUFU) и GLI2. Atwood et al., 27 Cancer Cell 342 (2015); Sharpe et al., 27 Cancer Cell 327 (2015). Будет полезным хорошо переносимый агент, способный преодолеть эти пути устойчивости посредством механизмов нацеливания ниже SMO.

BRD4 и другие белки бромодомена BET регулируют транскрипцию GLI1 ниже SMO, при этом BRD4 напрямую занимает промоторы GLI1 и GLI2. Это заполнение может быть ингибировано ингибиторами BET; и ингибитор BET, JQ1, уменьшает пролиферацию опухолевых клеток как *in vitro*, так и *in vivo* в опухолях, управляемых Hh - даже в тех, которые являются устойчивыми к ингибированию SMO. Tang et al., 2014. Следовательно, требуется клиническое исследование ингибитора BET у субъектов с местно распространенной или метастатической ВСС с *de novo* или приобретенной резистентностью.

Таким образом, некоторые замещенные гетероциклические производные на основе изохинолинонов и родственных гетероциклических структур оказались полезными для эпигенетической регуляции, поскольку они ингибируют опосредованное бромодоменом узнавание областей ацетил-лизина в белках, таких как гистоны; и поэтому являются полезными для лечения рака и неопластического заболевания. Примеры видов рака, для которых эти соединения и фармацевтические композиции являются полезными, включают карциному средней линии NUT, лимфому Беркитта, рак предстательной железы, рак молочной железы, рак мочевого пузыря, рак легкого, меланому, глиобластому и т.п. Эти замещенные гетероциклические производные основаны на изохинолинонах и родственных гетероциклических структурах и обычно замещены в положении 4 группой, такой как арил, гетероарил и т.п. и на атоме азота изохинолинона, или родственной гетероциклической структуре с малой алкильной группой, такой как метильная группа. Пример таких соединений, 4-[2-(циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-он, который далее рассматривается в настоящем документе, является мощным и обратимым ингибитором эпигенетических целевых белков BET, включая BRD. Как правило, замещенные гетероциклические производные согласно настоящему изобретению принадлежат классу соединений, имеющих структуры, представленные, например, формулой 1, формулой 2 или их солями. См. WO 2015/058160; публикацию патента США US 20150111885; патент США № 9034900.

В частности, вариант осуществления замещенного гетероциклического производного, обладающего ингибирующей BET активностью, показан в формуле 1:



Формула 1,

в которой R² представляет собой CH₃, CH₂CH₃, CH₂CF₃, CH₂F, CHF₂, CF₃, CH₂D, CHD₂ или CD₃;

X⁵ представляет собой C-R⁵ или N, где R⁵ представляет собой водород, галоген, OH, CN, OR⁶¹, NHR⁶¹, N(R⁶¹)₂, алкил, циклоалкил, циклоалкилалкил, арил, аралкил, гетероцикл, гетероциклилалкил, гетероарил или гетероарилалкил, где каждый R⁶¹ независимо выбран из алкила, циклоалкила, циклоалкилалкила, арила, аралкила, гетероциклила, гетероциклилалкила, гетероарила или гетероарилалкила;

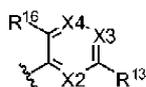
X⁶ представляет собой C-R⁶ или N, где R⁶ представляет собой водород, галоген, OH, CN, алкил, циклоалкил, циклоалкилалкил, amino, алкиламино, диалкиламино, циклоалкилалкиламино, алкокси или циклоалкилалкокси;

X⁷ представляет собой C-R⁷ или N, где R⁷ представляет собой водород, галоген, OH, CN, OR⁶¹, NHR⁶¹, N(R⁶¹)₂, алкил, циклоалкил, циклоалкилалкил, арил, аралкил, гетероцикл, гетероциклилалкил, гетероарил или гетероарилалкил;

X⁸ представляет собой C-R⁸ или N, где R⁸ представляет собой водород, галоген или алкил;

при этом не более чем два из X⁵, X⁶, X⁷ или X⁸ могут представлять собой N; и

R^A представляет собой:



где X² представляет собой N или C-R¹², где R¹² представляет собой водород, галоген, алкил или алкокси;

R¹³ представляет собой Y-Z, где Y выбран из связи, CH₂, CH((C₁-C₄)алкила) и Z выбран из SO₂R²¹, N(R²²)SO₂R²¹, SO₃N(R²²)₂, N(R²²)SO₂N(R²²)₂, CON(R²²)₂, N(R²²)CO₂R²¹, N(R²²)CON(R²²)₂, N(R²²)COR²¹, COR²¹, OC(O)N(R²²)₂, OSO₂N(R²²)₂ или N(R²²)SO₃R²¹;

каждый R^{21} независимо выбран из алкила, циклоалкила, циклоалкилалкила, арила, аралкила, гетероциклила, гетероциклилалкила, гетероарила или гетероарилалкила;

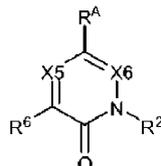
каждый R^{22} независимо выбран из водорода, алкила, циклоалкила, циклоалкилалкила, арила, аралкила, гетероциклила, гетероциклилалкила, гетероарила или гетероарилалкила;

X3 представляет собой N или C- R^{14} , где R^{14} представляет собой водород, галоген, -CN, алкил, циклоалкил или алкокси;

X4 представляет собой N или C- R^{15} , где R^{15} представляет собой водород, галоген, алкил, CN или алкокси;

R^{16} представляет собой водород, галоген или W-X, где W представляет собой связь, O, S или NH и X выбран из алкила, арила, аралкила, циклоалкила, циклоалкилалкила, алкинила, циклоалкилалкинила, гетероциклила, гетероциклилалкила, гетероарила или гетероарилалкила.

Другой вариант осуществления замещенного гетероциклического производного, обладающего активностью ингибитора ВЕТ, показан в виде формулы 2:



Формула 2

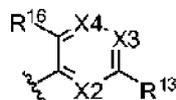
в которой R^2 представляет собой алкил, циклоалкил, циклоалкилалкил, гетероциклилалкил, аралкил или гетероарилалкил;

X5 представляет собой C- R^5 или N, где R^5 представляет собой водород, галоген, OH, CN, OR^{61} , NHR^{61} , $N(R^{61})_2$, алкил, циклоалкил, циклоалкилалкил, арил, аралкил, гетероциклил, гетероциклилалкил, гетероарил или гетероарилалкил, где каждый R^{61} независимо выбран из алкила, циклоалкила, циклоалкилалкила, арила, аралкила, гетероциклила, гетероциклилалкила, гетероарила или гетероарилалкила;

X6 представляет собой C-H или N при условии, что если X6 представляет собой N, то X5 представляет собой C- R^5 , и если X5 представляет собой N, то X6 представляет собой CH;

R^6 представляет собой водород, галоген, OH, CN, алкил, циклоалкил, циклоалкилалкил, амино, алкиламино, диалкиламино, циклоалкилалкиламино, алкокси, S-алкил, циклоалкилалкокси, гетероциклил, аралкокси, гетероарилкокси, арилкокси, алкинилкокси или N(H)COалкил;

R^A представляет собой:



в которой X2 представляет собой N или C- R^{12} , где R^{12} представляет собой водород, галоген, алкил или алкокси;

R^{13} представляет собой -Y-Z, где Y выбран из связи, -CH₂- или -CH((C₁-C₄)алкила)- и Z выбран из -SO₂ R^{21} , -N(R^{22})SO₂ R^{21} , -SO₂N(R^{22})₂, -N(R^{22})SO₂N(R^{22})₂, -CON(R^{22})₂, -N(R^{22})CO₂ R^{21} , -N(R^{22})CON(R^{22})₂, -N(R^{22})COR²¹, -COR²¹, -OC(O)N(R^{22})₂, -OSO₂N(R^{22})₂ или -N(R^{22})SO₃ R^{21} ;

каждый R^{21} независимо выбран из алкила, циклоалкила, циклоалкилалкила, арила, аралкила, гетероциклила, гетероциклилалкила, гетероарила или гетероарилалкила;

каждый R^{22} независимо выбран из водорода, алкила, циклоалкила, циклоалкилалкила, арила, аралкила, гетероциклила, гетероциклилалкила, гетероарила или гетероарилалкила;

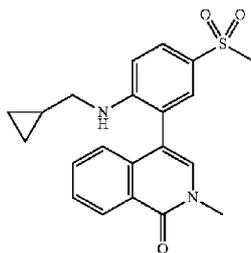
X3 представляет собой N или C- R^{14} , где R^{14} представляет собой водород, галоген, -CN, алкил, циклоалкил или алкокси;

X4 представляет собой N или C- R^{15} , где R^{15} представляет собой водород, галоген, алкил, -CN или алкокси; и

R^{16} представляет собой водород, галоген, N(H)COX или W-X, где W представляет собой связь, O, S или NH и X выбран из алкила, арила, аралкила, циклоалкила, циклоалкилалкила, алкинила, циклоалкилалкинила, гетероциклила, гетероциклилалкила, гетероарила или гетероарилалкила;

при условии, что когда X6 представляет собой N, то R^5 и R^6 не являются водородом.

Конкретным примером гетероциклического производного, обладающего активностью ингибитора ВЕТ, является 4-[2-(циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-он; который имеет химическую формулу C₂₁H₂₁NO₄S, молекулярную массу 383 и структуру, изображенную формулой 3:

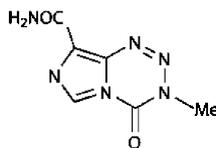


Формула 3.

См. WO 2015/058160; публикацию патента США US 20150111885; патент США № 9034900.

4-[2-(Циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-он (соединение А) является мощным обратимым ингибитором членов семейства BET, включая BRD2, BRD3, BRD4 и BRDT. Он показывает зависимое от дозы и времени ингибирование GII1 и, таким образом, играет важную роль в лечении Hh-управляемых опухолей, и опухолей с GII1-управляемой транскрипцией. Как обсуждается более подробно ниже, Соединение А уменьшало инокуляцию опухолевых клеток в модели BLBC *in vivo* и показало более высокую активность по сравнению с существующим клиническим стандартом, темозоломидом, в модели ксенотрансплантата GBM3. Интересно, что Соединение А проявило аддитивные или синергические эффекты в комбинации с темозоломидом, на основании чего можно предположить, что оно может быть полезным для опухолей с CSC и MYC-управляемых опухолей. Как отмечено и приведено здесь в качестве примера, Соединение А может быть составлено для перорального введения.

Алкилирующие агенты являются примером химиотерапевтических агентов, которые можно применять в комбинации с ингибиторами BET для лечения рака. Например, темозоломид является пролекарством и имидазотетразиновым производным алкилирующего агента дакарбазина. Химическое название темозоломида 3,4-дигидро-3-метил-4-оксоимидазо[5,1-d]-1,2,3,5-тетразин-8-карбоксамид, который имеет следующую структуру/формулу:



темозоломид

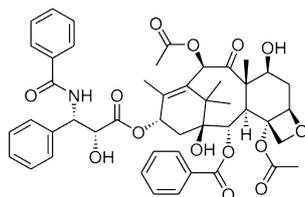
Темозоломид быстро гидролизуется в активный 5-(3-метилтриазен-1-ил)-имидазол-4-карбоксамид (MTIC) при нейтральных и щелочных значениях pH, при этом гидролиз происходит даже быстрее при щелочном pH. См. патент США № 5260291; WO 1997/027202; WO 2002/057269; WO 2008/038031; EP 0252682; US 2006/183898.

Темозоломид применяют в качестве алкилирующего агента при лечении некоторых видов рака головного мозга, в качестве терапии второй линии астроцитомы и терапии первой линии мультиформной глиобластомы. См. NICE Guidance (2001); Stevens, в Cancer Drug Design & Discovery (Neidle, Ed., Academic Press, New York, 2008). Терапевтическая польза темозоломида зависит от его способности алкилировать/метилировать ДНК, наиболее часто происходящее в положениях N-7 или O-6 остатков гуанина. Это метилирование повреждает ДНК и инициирует гибель опухолевых клеток. К сожалению, некоторые опухолевые клетки способны восстанавливать этот тип повреждения ДНК путем экспрессии O⁶-алкилгуанин-ДНК алкилтрансферазы (AGT), кодируемой у человека геном O⁶-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (MGMT), таким образом, ослабляя терапевтическую эффективность темозоломида. В некоторых опухолях эпигенетический сайленсинг гена MGMT предотвращает синтез этого фермента и поэтому такие опухоли являются более чувствительными к уничтожению темозоломидом. В противоположность этому, на основании присутствия белка AGT в опухолях головного мозга можно прогнозировать слабый ответ на темозоломид. См. Sitruk et al., 38 Gynecologie Obstetrique & Fertilité 660 (2010); Jacinto & Esteller, 6 DNA Repair 1155 (2007); Hegi et al., 352 New Eng. J. Med. 997 (2005); Hegi et al., 10 Lancet Oncol. 459 (2009).

Темозоломид может быть составлен в виде капсулы для перорального применения, при этом каждая капсула содержит 5, 20, 100, 140, 180 или 250 мг темозоломида. Темозоломид может быть также составлен для инъекции, осуществляемой путем внутривенной инфузии, при этом доза для инфузии является такой же, как доза для состава капсулы для перорального введения. Например, для впервые диагностированной глиобластомы введение осуществляют в дозе 75 мг/м² в течение 42 дней (одновременно с фокальной радиотерапией) с последующими 150 мг/м² для дней с 1 по 5 28-дневного цикла. Для рефрактерной анапластической астроцитомы начальная доза составляет 150 мг/м² раз в сутки в течение пяти последовательных дней 28-дневного цикла.

Таксаны (паклитаксел и доцетаксел) являются еще одним примером химиотерапевтического агента,

который может быть использован в комбинированной терапии с ингибиторами ВЕТ. См., например, патент США № 814470. Первоначально выделенный в виде естественного дитерпена из *Taxus brevifolia* (тихоокеанское тисовое дерево) алкалоидный паклитаксел связывается с субъединицами бета-тубулина микротрубочек, тем самым стабилизируя микротрубочки от дизассемблирования, которое должно возникнуть во время деления клеток: блокирование нормального прогрессирования деления клеток путем ингибирования функции веретена в конечном итоге запускает апоптоз. В настоящее время паклитаксел, полученный, *inter alia*, путем экстракции путем ферментации растительных клеток, очистки хроматографией и кристаллизации, применяют для лечения рака яичников, молочной железы, легких, поджелудочной железы и других видов рака. Полное химическое название паклитаксела (2 α ,4 α ,5 β ,7 β ,10 β ,13 α)-4,10-бис-(ацетилокси)-13-[[[(2R,3S)-3-(бензоиламино)-2-гидрокси-3-фенилпропаноил]окси]-1,7-дигидрокси-9-оксо-5,20-эпокситакс-11-ен-2-ил бензоат; и паклитаксел имеет следующую структуру:



паклитаксел.

В некоторых вариантах осуществления таксан представляет собой альбумин-связанный Abraxane® в виде наночастиц (частицы паклитаксела, связанные с белком, для суспензии, вводимой путем инъекции) (также называемый nab-паклитаксел). См., например, WO 2001/089522A1. Этот связанный с белком паклитаксел показан в качестве терапии первой линии или комбинированной терапии для нескольких видов рака, включая немелкоклеточный рак легкого, рак поджелудочной железы и рак молочной железы. См., например, WO 2008/057562. Эта композиция использует природные свойства альбумина для обратимого связывания с паклитакселом, переноса его через эндотелиальную клетку и концентрирования паклитаксела в областях опухоли. Более конкретно, механизм доставки лекарственного средства включает, в том числе, опосредованный гликопротеином-60 трансцитоз эндотелиальных клеток связанного с паклитакселом альбумина и накопление в области опухоли путем связывания альбумина с секретиремым белком, кислым, богатым цистеинами (SPARC), также известным как остеонектин, гликопротеин, преимущественно экспрессирующийся в тканях, подвергающихся ремоделированию во время нормального развития или в ответ на травму. Клинические исследования показали, что nab-паклитаксел значительно эффективнее других составов паклитаксела, причем nab-паклитаксел почти удваивает частоту ответа, увеличивает время до прогрессирования заболевания и увеличивают выживаемость у пациентов второй линии. См. WO 2010/06595.

Ромидепсин действует как пролекарство, при этом дисульфидная связь подвергается восстановлению внутри клетки для высвобождения цинк-связывающего тиола. Тиол обратимо взаимодействует с атомом цинка в кармане связывания Zn-зависимой гистондеацетилазы, чтобы блокировать его активность. Таким образом, он является ингибитором HDAC. Многие ингибиторы HDAC являются потенциальными схемами лечения рака благодаря способности эпигенетически восстанавливать нормальную экспрессию генов-супрессоров опухолей, что может привести к остановке клеточного цикла, дифференцировке и апоптозу. Ромидепсин показан для лечения пациентов с кожной T-клеточной лимфомой (CTCL), которые получали \geq одной предшествующей системной терапии, и пациентов с периферической T-клеточной лимфомой (PTCL), которые получали \geq одной предшествующей терапии.

По меньшей мере в одном варианте осуществления предлагается комбинированная терапия, включающая один из ингибиторов ВЕТ гетероциклического производного и темозоломид. По меньшей мере в одном варианте осуществления гетероциклическое производное представляет собой 4-[2-(циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-он формулы 3 (соединение А). В частности, синергические эффекты наблюдались при использовании Соединения А и темозоломида в модели ксенотрансплантата мультиформной глиобластомы (GBM), резистентной к темозоломиду. В частности, O⁶-метилгуанилметилтрансфераза (MGMT) вовлечена в устойчивость GBM к алкилирующему повреждению ДНК темозоломида. GBM3 представляет собой GBM, мышиную модель ксенотрансплантата опухоли, полученной от пациента (patient-derived xenograft, PDX), с высокой экспрессией MGMT, неметилированным промотором MGMT и фенотипом, устойчивым к темозоломиду. В предыдущих исследованиях нейросфер, культивированных из GBM3, RT-PCR показала, что Соединение А снижало экспрессию MGMT дозозависимым образом. Когда мышам, несущим GBM3, давали единичную дозу соединения А, qRT-PCR показала снижение экспрессии MGMT в извлеченной опухоли. В эксперименте на эффективность исследовали, может ли Соединение А сенсibilизировать темозоломид-резистентный GBM к темозоломиду и имеет ли комбинация синергические эффекты. Вкратце, когорты мышей, несущих GBM3, обрабатывали темозоломидом, Соединением А или комбинацией Соединения А и темозоломида. Ингибирование роста опухоли (TGI) наблюдалось после дозирования взятого в отдель-

ности Соединения А или в комбинации с темозоломидом. Хотя темозоломид, при введении отдельно, не дает значительного TGI (3%), Соединение А, при отдельном введении, приводило к существенному TGI (63%) (12 мг/кг QD) и 76% (6 мг/кг BID). См. фиг. 3. Эти данные подтверждают применение ингибитора ВЕТ, такого как Соединение А, в качестве сенсibilизатора к химиотерапевтическому агенту, такому как темозоломид, возможно, путем уменьшения экспрессии генов, ответственных за резистентность (например, лекарственные помпы).

Удивительным образом было обнаружено, что комбинация Соединения А и темозоломида значительно превосходила все другие схемы лечения и продемонстрировала синергию. См. фиг. 3. Таким образом, можно эффективно применять более низкие дозы как Соединения А, так и темозоломида. Это, в свою очередь, уменьшает токсичность и побочные эффекты, если таковые имеются, связанные с введением Соединения А или темозоломида, без снижения эффективности.

Другие исследования *in vitro* и *in vivo* были проведены для характеристики Соединения А. Например, ингибирование роста опухоли (TGI) соединением А было продемонстрировано в моделях ксенотрансплантатов опухолей TNBC и GBM. В модели PDX тройного негативного рака молочной железы (TNBC), COH7, лечение соединением А показало значительное ингибирование роста опухоли (TGI) у мышей NOD/SCID/IL2R γ ^{-/-} (NSG). См. фиг. 1. В модели PDX GBM, GBM15, эффективность Соединения А была продемонстрирована с использованием нескольких схем лечения. См. фиг. 2. Соединение А показало зависимое от дозы и времени ингибирование GLI1 и может представлять ценность при лечении Нн-управляемых опухолей или опухолей с GLI-управляемой транскрипцией, таких как ВСС. Соединение А также уменьшало инокуляцию опухолевых клеток в модели базально-подобного рака молочной железы (BLBC) *in vivo* и показало более высокую активность, чем темозоломид в модели ксенотрансплантата GBM3, а также проявило синергические эффекты в комбинации с темозоломидом, тем самым давая основание предположить, что Соединение А в комбинации с темозоломидом является полезным в отношении опухолей с раковыми стволовыми клетками или MYC-управляемых опухолей.

Например, регулирование экспрессии гена MYC с помощью BRD4 было показано в моделях лимфомы Беркитта с ингибированием BRD4, что приводило к остановке роста. Mertz, 2011. Аналогичным образом, в модели аденокарциномы легкого было обнаружено, что ингибирование BRD4 является антипролиферативным; но этот эффект был приписан снижению экспрессии FOSL1. Lockwood, 2012. Также было показано, что BRD4 регулирует экспрессию гена GLI1, тем самым модулируя сигнальный путь hedgehog, который, как известно, является разрегулированным в нескольких типах рака. Tang, 2014. Лечение соединением А ингибировало экспрессию гена MYC в клетках лимфомы Раджи Беркитта со средним значением IC₅₀ 0,06 мкМ; экспрессию гена FOSL1 в клетках астроцитомы глиобластомы U 87 с величиной IC₅₀ 0,03 мкМ и экспрессию гена GLI1 в клетках аденокарциномы поджелудочной железы MIA-PaCa-2 с величиной IC₅₀ 0,24 мкМ. Лечение мышей, несущих COH7 (ксенотрансплантат опухоли, полученной от пациента (patient-derived xenograft, PDX) с тройным негативным раком молочной железы (TNBC)), Соединением А привело к даун-регуляции MYC, и модуляция уровней экспрессии MYC коррелировала с внутриопухолевыми концентрациями Соединения А. Дополнительно к регуляции экспрессии генов дозозависимым образом рост опухолевых клеток был ингибирован *in vitro*.

Было проведено несколько других исследований *in vitro* и *in vivo* для характеристики абсорбции, PK, распределения, метаболизма и элиминации Соединения А. Фармакокинетику и пероральную биодоступность Соединения А оценивали у крыс Sprague-Dawley и собак Beagle. Лечение *in vivo* мышей, несущих опухоли, воссоздавало данные *in vitro* и обеспечивало дозировку, схему и информацию о воздействии на плазму. Надежные и воспроизводимые биоаналитические методы количественного определения уровней Соединения А были разработаны и использованы в PK и токсикокинетических исследованиях. Параметры PK человека и воздействия были предсказаны с использованием аллометрического масштабирования.

Метаболизм Соединения А оценивали *in vitro* с использованием гепатоцитов человека, а N-десметильное производное идентифицировали в качестве одного метаболита. Этот метаболит также наблюдался в гепатоцитах крыс, собак и обезьян. Не было обнаружено уникальных метаболитов человека. Исследования с использованием рекомбинантных ферментов CYP показали, что множество ферментов CYP могут метаболизировать Соединение А. *In vitro* Соединение А не ингибирует CYP1A2 и CYP3A4; но может ингибировать CYP2C9, CYP2C19 и CYP2D6. В гепатоцитах Соединение А не индуцирует CYP1A2, CYP2B6 или CYP3A4. Следовательно, при клинически значимых концентрациях Соединение А имеет минимальный потенциал к вызыванию межлекарственных взаимодействий с вводимыми совместно лекарственными средствами, которые являются субстратами CYP.

В клиническом исследовании оценивали безопасность и переносимость комбинированной терапии, включающей Соединение А и темозоломид, у людей, а также биологическую и клиническую активность. Для этой цели полезными являются доклинические исследования Соединения А. На основе доз и воздействий, при которых возникали основные связанные с лечением эффекты в исследованиях в соответствии с надлежащей лабораторной практикой (GLP) на четырехнедельных крысах и собаках, оба вида считаются одинаково чувствительными к токсичности, связанной с введением Соединения А. Предложенная начальная доза для человека составляет 15 мг Соединения А, один раз в день в течение трех последова-

тельных дней, с последующими четырьмя последовательными днями отдыха каждую неделю (график дозирования 3/7 дней). Поскольку Соединение А и темозоломид проявляют синергический эффект, исследовали дозу каждого или обоих в комбинированной терапии.

В вариантах осуществления настоящего изобретения предлагается способ лечения рака, включающий введение ингибитора ВЕТ и химиотерапевтического агента; например, Соединения А и темозоломида. Таким образом, варианты осуществления, кроме того, обеспечивают фармацевтические композиции, которые включают ингибитор ВЕТ в качестве активного ингредиента или ингибитор ВЕТ и темозоломид в качестве активных ингредиентов. Такие фармацевтические композиции могут принимать любую необходимую физическую форму в зависимости от ряда факторов, включая желаемый способ введения, и физико-химическую и стереохимическую форму, принимаемую этими агентами или их фармацевтически приемлемыми солями. Такие физические формы включают твердое вещество, жидкость, газ, золь, гель, аэрозоль или любую другую физическую форму, известную или еще не раскрытую. Понятие фармацевтической композиции, включающей один или оба из этих агентов, также охватывает эти агенты без какой-либо другой добавки. Физическая форма фармацевтической композиции может влиять на путь введения, и специалист в данной области знает, как выбрать путь введения, который учитывает как физическую форму композиции, так и нарушение, подвергаемое лечению. Фармацевтические композиции, которые включают ингибитор ВЕТ или ингибитор ВЕТ и темозоломид, могут быть получены с использованием методики, хорошо известной в фармацевтической области. Фармацевтическая композиция, которая включает Соединение А или Соединение А и темозоломид, может включать дополнительный активный агент. Этот дополнительный активный агент может иметь такую же или аналогичную молекулярную мишень, что и Соединение А, или аналогичную молекулярную мишень, как темозоломид или паклитаксел, связанный с альбумином, или он может действовать апстрим или даунстрим молекулярной мишени(ей) по отношению к одному или нескольким биохимическим путям.

Способы введения включают, но без ограничения, пероральное введение и парентеральное введение. Парентеральное введение включает, но без ограничения, внутривенное, внутримышечное, внутривенное, внутривенное, подкожное, интраназальное, эпидуральное, подъязычное, интраназальное, внутримозговое, внутрижелудочковое, интратекальное, внутривагинальное, трансдермальное, ректальное введение, введение путем ингаляции или местное введение в уши, нос, глаза или нанесение на кожу. Другие способы введения включают, но без ограничения, инфузионные методы, включая инфузию или болюсную инъекцию, путем абсорбции через эпителиальные или слизистые оболочки, такие как слизистая оболочка полости рта, слизистая оболочка прямой кишки и кишечника. Композиции для парентерального введения могут быть заключены в ампулу, одноразовый шприц или многодозовый флакон из стекла, пластика или другого материала. Комбинированная терапия, описанная здесь, охватывает ингибиторы ВЕТ и темозоломид, паклитаксел или ромидепсин, приготовленные для одного и того же или для разных путей введения. Например, Соединение А может быть изготовлено для перорального введения, тогда как темозоломид изготовлен для инфузии.

Определение эффективного количества ингибитора ВЕТ (такого как Соединение А) и химиотерапевтического агента (такого как темозоломид, паклитаксел или ромидепсин) находится в пределах компетенции специалистов в данной области в свете раскрытия, обеспеченного в настоящем документе. Эффективное количество фармацевтической композиции, используемой для конкретной цели, а также фармакологически приемлемая доза, определяемая токсичностью, экскрецией и общей переносимостью, может быть определена в культурах клеток или у экспериментальных животных с помощью фармацевтических и токсикологических процедур, известных в настоящее время специалистами в данной области или любым другим способом, который еще не раскрыт. Одним из примеров является определение IC_{50} (половина максимальной ингибирующей концентрации) фармацевтических композиций *in vitro* в клеточных линиях или молекулах-мишенях. Другим примером является определение LD_{50} (смертельная доза, вызывающая смерть у 50% испытуемых животных) фармацевтической композиции у экспериментальных животных. Точные методы, используемые при определении эффективного количества, зависят от таких факторов, как тип и физико-химические свойства фармацевтической композиции, тестируемого свойства и того, должен ли тест выполняться *in vitro* или *in vivo*. Определение эффективного количества фармацевтической композиции хорошо известно специалисту в данной области, который использует данные, полученные в любых тестах при проведении этого определения. Определение эффективного количества комбинации агентов, например Соединения А и темозоломида, паклитаксела или ромидепсина, для добавления к раковой клетке также включает определение эффективного терапевтического количества, включая составление диапазона эффективных доз для применения *in vivo*, в том числе у людей.

Лечение рассматривается в живых организмах, включая, но без ограничения, млекопитающих (в частности, людей), а также других млекопитающих, имеющих экономическую или социальную значимость, включая находящихся под угрозой исчезновения. Другие примеры включают сельскохозяйственных животных или других животных, обычно выращенных для потребления человеком, и домашних животных-компаньонов. Токсичность и терапевтическую эффективность фармацевтической композиции(й) можно определить с помощью стандартных фармацевтических процедур на клеточных культурах или животных. Примеры включают определение IC_{50} и LD_{50} для комбинированной терапии рассматриваемых

соединений. Данные, полученные из этих анализов клеточных культур и исследований на животных, могут быть использованы при составлении диапазона доз для применения у человека. Доза может варьироваться в зависимости от используемой лекарственной формы и используемого пути введения.

Эффективные количества активных агентов в комбинированной терапии Соединением А и темозоломидом приводят к замедлению распространения раковых клеток или ингибированию роста опухоли (TGI), но могут иметь минимальные эффекты на нераковые клетки. Концентрации, которые вырабатывают эти эффекты, могут быть определены с использованием, например, маркеров апоптоза, таких как апоптотический индекс и/или активности каспазы *in vitro* или *in vivo*.

Способ лечения рака с использованием комбинации Соединения А и темозоломида, паклитаксела или ромидеписина включает терапевтически эффективное количество этих веществ и охватывает любой способ дозирования одного или обоих этих соединений. Дозирование может включать однократные или многократные введения любой из ряда фармацевтических композиций, которые включают Соединение А, темозоломид, паклитаксел или ромидепсин или Соединение А и темозоломид, паклитаксел или ромидепсин в качестве активного ингредиента(ов). Примеры включают однократное введение композиции с медленным высвобождением, курс лечения, включающий несколько курсов лечения на регулярной или нерегулярной основе, многократные введения в течение периода времени до достижения ослабления патологического состояния, профилактические методы лечения, применяемые до возникновения симптомов, или любой другой режим дозирования, известный в данной области, или все еще подлежащий раскрытию, который специалист в данной области распознает как потенциально эффективный режим. Конечный режим дозирования, включая регулярность и способ введения, зависит от любого из многочисленных факторов, включая субъекта, подлежащего лечению; биомаркеры, определяющие конкретное патологическое состояние или эффективность агента; тяжесть заболевания; способ введения; стадию развития болезни; наличие одного или нескольких других состояний, таких как беременность, грудной возраст; наличие одного или нескольких дополнительных заболеваний; или любой другой фактор, известный в настоящее время или еще не раскрытый, который влияет на выбор способа введения, подлежащую введению дозу и период времени, в течение которого осуществляют введение дозы.

Фармацевтические композиции, которые включают Соединение А, могут быть введены до, одновременно или после введения фармацевтической композиции, которая включает темозоломид, паклитаксел или ромидепсин. Если композиции вводят одновременно, их вводят в одно и то же время или с интервалом в 1 мин друг от друга. В случае не одновременного введения фармацевтическую композицию, содержащую темозоломид, паклитаксел или ромидепсин и Соединение А, можно вводить в течение периода времени, составляющего 1 или более минут, часов, дней, недель или месяцев до или после введения фармацевтической композиции, которая включает другой агент. Альтернативно, комбинацию фармацевтических композиций можно вводить циклически. Циклическая терапия включает введение одной или более фармацевтических композиций в течение некоторого периода времени с последующим введением одной или более различных фармацевтических композиций в течение некоторого периода времени, и повторение этого последовательного введения для того, чтобы уменьшить развитие резистентности к одной или более композициям, избежать или уменьшить побочные эффекты одной или более композиций, или повысить эффективность лечения.

Кроме того, был идентифицирован набор генов, экспрессия которых снижается при лечении *ex vivo* Соединением А в мононуклеарных клетках периферической крови (РВМС) и в цельной крови. В настоящем исследовании изменения в экспрессии этих генов в цельной крови или других генов в биопсийном образце опухолевой ткани опухоли могут дать подтверждение того, что доза является фармакологически активной, и могут помочь отличить, какая доза показывает наиболее высокую фармакологическую активность. Предиктивные биомаркеры позволяют провести проспективную идентификацию пациентов, которые наиболее вероятно будут получать пользу клинически от Соединения А в качестве индивидуального агента, в комбинации с темозоломидом, паклитакселом или ромидепсином или в комбинации с другими агентами. Хотя прогностические диагностические анализы в текущем исследовании носят исследовательский характер, они выявляют связи между биомаркерами и ответами, которые служат основой для будущих диагностических исследований.

Эти варианты осуществления, кроме того, включают способы лечения рака, которые включают комбинированную терапию, описанную в настоящем документе, и, кроме того, включают другой способ лечения. Такие способы лечения включают, но без ограничения, лучевую терапию, химиотерапию, хирургию, иммунотерапию, противораковые вакцины, радиоиммунотерапию, лечение фармацевтическими композициями, отличными от описанных в настоящем документе, или любой другой способ, который эффективно лечит рак в комбинации с раскрытым соединением, известным в настоящее время или еще не раскрытым. Комбинированная терапия согласно настоящему изобретению действует синергически: комбинация Соединения А и темозоломида, паклитаксела или ромидеписина является более эффективной, чем любая терапия, вводимая отдельно. Другой способ лечения может быть аддитивным или синергическим по эффективности. Таким образом, могут быть эффективно использованы более низкие дозы обоих способов лечения. Это, в свою очередь, снижает токсичность и побочные эффекты, если таковые имеются, связанные с применением любого способа без снижения эффективности.

В другом аспекте комбинированную терапию, включающую Соединение А и темозоломид, проводят в комбинации с терапевтически эффективным количеством лучевой терапии. Лучевую терапию можно применять одновременно, до или после проведения терапии Соединением А и темозоломидом, паклитакселом или ромидепсином. Лучевая терапия может действовать аддитивно или синергически с комбинированной терапией. Этот конкретный аспект изобретения будет наиболее эффективным против видов рака, которые, как известно, отвечают на лучевую терапию. Виды рака, которые, как известно, отвечают на лучевую терапию, включают, но без ограничения, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, саркому Юинга, рак яичка, рак предстательной железы, рак яичников, рак мочевого пузыря, рак гортани, рак шейки матки, рак носоглотки, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак поджелудочной железы, рак головы и шеи, рак пищевода, рак прямой кишки, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, опухоли головного мозга, другие опухоли центральной нервной системы или любую другую такую опухоль, известную в настоящее время или еще не раскрытую.

В другом аспекте лечение пациента с глиобластомой проводят ингибитором бромодомена, таким как Соединение А, в комбинации с темозоломидом, паклитакселом или ромидепсином. Эффективная доза агентов в комбинированной терапии представляет собой количества, эффективные для предупреждения появления симптомов нарушения или для лечения некоторых симптомов нарушения, которым страдает пациент. Эффективная доза также включает эффективное количество, терапевтическое количество или любое количество, достаточное для вызывания желаемых фармакологических или терапевтических эффектов, приводя, таким образом, к эффективному предупреждению или лечению нарушения. Таким образом, при лечении пациента с глиобластомой эффективное количество комбинированной терапии предусматривает количества Соединения А и темозоломида, паклитаксела или ромидепсина, достаточные для замедления или остановки прогрессирования, миграции, метастазирования, роста или развития опухоли. Результатом может являться продление жизни. Фармакологически приемлемая доза или максимальная приемлемая доза включают дозу, которую можно вводить пациенту, которая не является летальной для пациента или не вызывает эффектов, угрожающих здоровью или жизни пациента.

В частности, пациенты включают человека, отличного от человека примата, домашнее животное или млекопитающее, страдающее заболеванием. В одном аспекте у пациента имеются симптомы, которые указывают на наличие опухоли или другого роста в головном мозге. Такие симптомы включают головную боль, судороги, изменения психики или личности, синдром объемного образования в полости черепа, или одну из целого ряда фокальных или локализованных систем, включая звуки звонка или жужжания, потерю слуха, потерю координации, снижение чувствительности, слабость или паралич, трудности с ходьбой или речью, трудности с поддержанием баланса, снижение контроля над мышцами, или двоение в глазах. Пациенты могут проявлять один или более различных типов опухолей головного мозга, включая неврину слухового нерва, астроцитому, эпендиому, мультиформную глиобластому, менингиому, метастатические опухоли, происходящие из другого типа опухоли, смешанную глиобластому, олигодендроглиобластому или опухоль пинельной области головного мозга.

Таким образом, требуется клиническое испытание иллюстративного ингибитора ВЕТ, Соединения А, в частности, в комбинации с темозоломидом, паклитакселом или ромидепсином, в отношении противоопухолевой активности в различных злокачественных опухолях. Исследование с участием человека разработано для оценки безопасности лекарственного средства и фармакокинетических профилей с различными уровнями доз/режимами дозирования, а также отражает начальные сигналы эффективности лекарственного средства для ускорения разработки фазы 2 клинических испытаний. Все исследования с участием человека проводили в соответствии с правилами Надлежащей клинической практики, иницированными Международной конференцией по гармонизации (International Conference on Harmonisation Good Clinical Practices).

В частности, исследование ингибитора ВЕТ в комбинации с химиотерапевтическим агентом представляет собой открытое, впервые проводимое у человека (First-In-Human, FIH) клиническое исследование фазы 1a с эскалацией дозы и расширением когорты, у субъектов, например, с распространенными солидными опухолями или рецидивными/рефрактерными формами NHL. Исследование может состоять из двух частей: эскалация дозы (часть А) и расширение когорты (часть В). Иллюстративная предложенная начальная доза Соединения А для человека составляет 15 мг, вводимая раз в сутки в течение трех последовательных дней с последующими четырьмя последовательными днями лекарственных каникул, каждую неделю (режим дозирования 3/7 дней). Основной целью исследования является идентификация дозы ингибитора ВЕТ и химиотерапевтического агента, которая является не только безопасной, но и проявляет фармакологическую активность. Например, предполагаемая начальная доза темозоломида, паклитаксела или ромидепсина и Соединения А в комбинированной терапии может быть определена путем обращения к существующим режимам дозирования, как правило, с проведением дополнительных фармакокинетических, фармакологических и токсикологических исследований.

В части исследования, касающейся эскалации дозы (часть А), исследуют увеличивающиеся пероральные дозы комбинированной терапии для оценки максимально переносимой дозы (MTD) и/или RPTD ингибитора ВЕТ и химиотерапевтического агента. В части исследования, касающейся расширения когорты (часть В), дополнительно оценивают безопасность и эффективность комбинированной терапии,

проводимой при MTD или более низкой дозе в выбранных расширенных когортах. Один или более режимов дозирования или поднаборов заболеваний может быть выбрано для расширения когорты. Части А и В состоят из трех периодов: скрининг, лечение и периоды последующего наблюдения (см. фиг. 4). Цели исследования представлены в обобщенном виде в табл. 1, и конечные точки исследования представлены в обобщенном виде в табл. 2.

Таблица 1

Цели исследования

Первичные цели исследования
Первичные цели исследования представляют собой следующие: <ul style="list-style-type: none"> - Определение безопасности и переносимости комбинированной терапии, содержащей ингибитор ВЕГ. - Определение максимально переносимой дозы (MTD) или дозы, рекомендуемой для клинического исследования 2 фазы (RP2D), для комбинированной терапии
Вторичные цели исследования
Вторичные цели исследования представляют собой следующие: <ul style="list-style-type: none"> - Получение информации о предварительной эффективности комбинированной терапии. - Характеристика фармакокинетики (РК) каждого компонента комбинированной терапии.
Поисковые цели исследования
Поисковые цели исследования представляют собой следующие: <ul style="list-style-type: none"> - Оценка фармакодинамических (PD) эффектов комбинированной терапии на экспрессию гена в периферической крови и, при наличии, в образцах опухолей. - Исследование взаимосвязи между дозой комбинированной терапии, содержанием в плазме крови и выбранными конечными точками исследования (например, показатели токсичности, предварительной активности или биомаркеры). - Характеристика основных метаболитов комбинированной терапии в плазме при условии наличия достаточного объема данных.

Конечные точки исследования

Конечная точка	Название	Описание	Временной диапазон
Первичная	Конечные точки безопасности	DLT и MTD оценивали с использованием критерия NCI CTCAE, версия 4.03	Эскалация дозы
Вторичная	Предварительная эффективность	Определяли по частоте ответов с помощью подходящего для заболевания критерия ответа	Эскалация дозы и расширение когорт
		Частота контроля заболевания (DCR), частота объективных ответов (ORR), длительность ответа или стабилизации заболевания, и выживаемость без прогрессирования заболевания (PFS)	Эскалация дозы и расширение когорт
	Общая выживаемость	С момента рандомизации до смерти по любой причине	Эскалация дозы и расширение когорт
	Конечные точки для оценки фармакокинетики (ПК)	Пиковая (максимальная) концентрация в плазме лекарственных средств (C_{max}), площадь под кривой зависимости концентрации в плазме от времени (AUC), время до достижения пиковой (максимальной) концентрации в плазме (t_{max}), конечный период полувыведения ($t_{1/2}$), кажущийся клиренс (CL/F), кажущийся объем распределения (V_z/F), и индекс накопления каждого компонента комбинированной терапии	Эскалация дозы
Поисковая	Конечные точки для оценки фармакодинамики (PD)	<ul style="list-style-type: none"> Генная экспрессия в клеточных компонентах периферической крови Генная экспрессия в опухолевой ткани в случае ее наличия 	Эскалация дозы и расширение числа когорт
DLT = дозопонижающая токсичность; MTD = максимально переносимая доза; NCI CTCAE = общие терминологические критерии нежелательных явлений Национального института онкологии США (National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events); NTD = непереносимая доза; RNA = рибонуклеиновая кислота.			

Во время лечебного периода составы, содержащие ингибитор ВЕТ, сначала можно вводить перорально раз в сутки (QD) в течение трех последовательных дней с последующими четырьмя днями лекарственных каникул (режим дозирования три дня прием/семь дней лекарственные каникулы) в каждом четырехнедельном цикле. Альтернативные режимы дозирования (например, два дня прием/пять дней лекарственные каникулы, каждую неделю) изучают на основе анализа, проведенного Комитетом по обзору научных проектов (SRC), имеющихся данных по безопасности, ПК, фармакодинамике (PD) и эффективности. Во время периода комбинированного лечения составы, содержащие ингибитор ВЕТ, сначала можно вводить перорально, раз в сутки в течение трех последовательных дней с последующими четырьмя последовательными днями лекарственных каникул, каждую неделю (режим дозирования три/семь дней) в каждом четырехнедельном цикле; и составы, содержащие темозоломид, можно вводить на дни 7-9 и 22-24 четырехнедельного цикла. Альтернативные режимы дозирования (например, два дня прием/пять дней лекарственные каникулы, каждую неделю) изучают на основе анализа SRC имеющихся данных по безопасности, фармакокинетики (ПК), фармакодинамике (PD) и эффективности.

Решение, касающееся оценки дополнительных субъектов в пределах когорты субъектов, получающих определенную дозу; когорты субъектов, получающей более высокую дозу; когорт, получающих промежуточную дозу; меньшего шага повышения дозы; альтернативных режимов дозирования (например, два дня прием/пять дней лекарственные каникулы, каждую неделю) или объявления MTD, также принимается SRC на основании оценки BLRM и анализа доступной информации по безопасности (т.е. данных по DLT и не-DLT), ПК, PD и эффективности.

После введения первой дозы в любой когорте во время эскалации дозы субъектов в каждой когорте наблюдают в течение 28 дней перед тем, как перейти к когорте субъектов, получающих следующую дозу. В данную когорту эскалации дозы отбирают не более одного субъекта в день. Субъектов, не поддающихся оценке на DLT, заменяют.

Что касается части В - расширения когорты, то после завершения эскалации дозы (часть А) когорты субъектов с выбранными опухолями отбирают в фазу расширения (часть В), каждая из которых состоит

примерно из 20 поддающихся оценке субъектов. Расширение может происходить при MTD и режиме дозирования, установленном в фазе эскалации дозы, или при альтернативной переносимой дозе и режиме дозирования на основе анализа полученных в части А данных по безопасности, PK, PD и эффективности комбинированной терапии. Один или несколько режимов дозирования могут быть выбраны для расширения когорты. SRC продолжает анализировать данные по безопасности регулярно на протяжении всего исследования и дает рекомендации относительно продолжения исследования и модификации дозы, по необходимости.

Например, Соединение А может быть составлено в виде таблеток для перорального введения; и темозоломид может быть составлен в виде капсул для перорального введения. Альтернативно, Соединение А и темозоломид составлены совместно в виде единой таблетки или капсулы для перорального введения. В другом альтернативном примере Соединение А составлено в виде таблеток для перорального введения, а темозоломид составлен для инфузии. В качестве еще одного примера, так как альбумин-связанный паклитаксел составлен для инфузии, Соединение А может быть составлено для перорального введения. Альтернативно, Соединение А может быть адаптировано для инфузии с паклитакселом, связанным белком. Маркировка является соответствующей, например, для исследовательского использования в соответствии с положениями соответствующего органа здравоохранения страны.

Для основных оценок эффективности субъектов оценивали на эффективность после каждых двух циклов до цикла 6, и после этого каждые три цикла. Всех субъектов, которые прекратили лечение, наблюдали до прогрессирования или начала новых системных противоопухолевых терапий. В период последующего наблюдения всех субъектов наблюдали на безопасность после последней дозы любого компонента комбинированной терапии. После визита последующего наблюдения для оценки безопасности всех субъектов наблюдали каждые последующие три месяца для оценки выживаемости в течение до двух лет или до смерти, утраты контакта для последующего наблюдения или окончания исследования.

Определяли ответ опухоли. Для солидных опухолей оценка основана на Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST 1.1). Eisenhauer et al., 45 Eur. J. Cancer 228 (2009). Для NHL оценка основана на International Working Group Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. Cheson et al., 25 J. Clin. Oncol. 579 (2007). Позитронно-эмиссионная томография (PET) с [¹⁸F]-флуородоксиглюкозой (FDG) или визуализация FDG PET/CT требуется для подтверждения полного ответа у субъектов с опухолями с повышенным накоплением FDG.

Во время части А эскалации дозы было отобрано примерно 30-40 субъектов. Во время части В расширения когорты было отобрано сначала по меньшей мере 14 субъектов, поддающихся оценке на эффективность, для каждой когорты субъектов, имеющих определенный тип опухоли. Если частота ответа составляет 20% или более, существует более чем 95%-ный шанс того, что один или несколько субъектов, ответивших на лечение, будут наблюдаться среди первых 14 субъектов, что подлежит статистическому обновлению на основе изменения DCR в качестве основного показателя эффективности. Gehan, 13 J. Chronic Dis. 346 (1961). Если среди 14 субъектов не наблюдается субъекта, ответившего на лечение, то набор для этой когорты субъектов с определенным типом опухоли останавливают из-за отсутствия эффективности. В противном случае, когорту субъектов с определенным типом опухоли расширяют приблизительно до 20 субъектов в случае, если наблюдается субъект, ответивший на лечение.

Во все моменты времени принятия решения BLRM допускает изменения шага повышения дозы исходя из наблюдаемых показателей DLT; однако доза для следующей когорты не будет превышать 100% увеличение от предыдущей дозы. Максимально переносимая доза (MTD) является самой высокой дозой, которая с малой вероятностью (апостериорная вероятность <25%) будет вызывать DLT $\geq 33\%$ подвергнутых лечению субъектов в первом цикле лечения активным агентом.

Что касается части В расширения когорты, то после завершения эскалации дозы (часть А) когорты субъектов с выбранным типом опухоли включают в фазу расширения (часть В), при этом каждая когорта состоит примерно из 20 поддающихся оценке субъектов. Расширение может происходить при MTD и режиме дозирования, установленном в фазе эскалации дозы, или при альтернативной переносимой дозе и режиме дозирования на основе анализа полученных в части А данных по безопасности, PK, PD и эффективности. Один или несколько режимов дозирования могут быть выбраны для расширения когорты.

Окончание исследования определяется как дата последнего визита последнего субъекта для завершения последующего наблюдения после окончания лечения, или как дата получения последних данных для последнего субъекта, требуемых для первичного, вторичного и/или поискового анализа, как предварительно указано в протоколе, в зависимости от того, какая из этих дат является более поздней.

Примеры

Пример 1. Синтез 4-[2-(циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-она (соединение А).

Если не указано иное, реагенты и растворители использовали в том виде, в котором их получали от коммерческих поставщиков. Безводные растворители и высушенную в печи стеклянную посуду использовали для синтетических превращений, чувствительных к влаге и/или кислороду. Выходы не были оптимизированы. Времена реакций являются приблизительными и не были оптимизированы. Колоночную хроматографию и тонкослойную хроматографию (TLC) выполняли на силикагеле, если не указано иначе.

Спектры представлены в ppm (δ), а константы взаимодействия (J) представлены в герцах. Для спектров ^1H ЯМР в качестве эталонного пика использовался пик растворителя.

4-(Метилсульфонил)фенол смешивали с N-бромсукцинимидом (NBS) и H_2SO_4 (каталитическое количество) в тетрагидрофуране (TFH) с образованием 2-бром-4-(метилсульфонил)фенола, который затем вступал в реакцию с циклопропилметилбромидом и K_2CO_3 в ацетоне с получением 2-бром-N-(циклопропилметил)-4-метилсульфониланилина. Смесь 2-бром-1-ч[-(циклопропилметил)-4-метилсульфониланилина, K_3PO_4 и $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ в смеси 5:1 диоксан: H_2O продували три раза азотом и затем перемешивали при 70°C в течение 18 ч в атмосфере N_2 . Смесь фильтровали и концентрировали. Остаток очищали препаративной HPLC с получением указанного соединения. См. патент США № 9034900.

Характеристика 4-[2-(циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-она:

^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ 8.54 (d, J=7.6 Гц, 1H), 7.80 (dd, $J_1=8.8$ Гц, $J_2=2.4$ Гц, 1H), 7.67 (d, J=2.4 Гц, 1H), 7.60-7.55 (m, 2H), 7.17 (d, J=8.0 Гц, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.77 (d, J=8.8 Гц, 1H), 4.24-4.23 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.06 (s, 3H), 3.03-2.99 (m, 2H), 0.93-0.91 (m, 1H), 0.45-0.37 (m, 2H), 0.12-0.054 (m, 2H).

LCMS (M+H) $^+$ =383.1 (M+H) $^+$.

Пример 2. Анализ ингибирования ВЕТ и темозоломида *in vitro* и клеточный анализ *in vitro*.

Определяли значение IC_{50} для описанных в настоящем документе гетероциклических производных, применяемых в качестве ингибиторов BRD4 (см. патент США № 9034900), включая Соединение А. His-меченый BRD4 клонировали, экспрессировали и очищали до гомогенности. Filipakopoulos et al., 468 Nature 1067 (2010). Связывание и ингибирование BRD4 оценивали путем мониторинга взаимодействия биотинилированного H4-тетраацетил пептида (AnaSpec, H4K5/8/12/16(Ac), биотин-меченый) с мишенью по технологии AlphaScreen (Life Technologies). В 384-луночном планшете ProxiPlate BRD4(BD1) (конечная концентрация 2 нМ) смешивали с пептидом (конечная концентрация 15 нМ) в 50 мМ HEPES (pH 7,3), 10 мМ NaCl, 0,25 мМ TCEP, 0,1% (мас./об.) BSA и 0,005% (мас./об.) Brij-35 в присутствии DMSO (конечная концентрация DMSO 0,4%) или серийного разведения соединения в DMSO. После 20-минутной инкубации при комнатной температуре добавляли донорные шарики альфа-стрептавидина и акцепторные шарики никелевого хелата до конечной концентрации 5 мкг/мл. Через 2 ч уравнивания планшеты считывали на планшет-ридере Envision и рассчитывали IC_{50} путем построения нелинейной кривой с четырьмя параметрами. Количественно оценивали способность Соединения А ингибировать активность BRD4 и соответствующее значение IC_{50} .

Колориметрический анализ клеточной пролиферации (анализ Cell-MTS) выполняли для оценки способности описанных в настоящем документе гетероциклических производных в качестве ингибиторов BRD4 (см. патент США 9034900), включая Соединение А, влиять на пролиферацию известных линий раковых клеток. Анализ Cell-MTS представляет собой 7-дневный колориметрический анализ с использованием планшета, оценивающий количество вновь образовавшегося NADH в присутствии или отсутствии тестируемого соединения. Уровень NADH используется для количественной оценки пролиферации раковых клеток. Известные линии раковых клеток с различными управляющими мутациями получали из Американской коллекции типовых культур (ATCC) и согласно обычной практике пересевали в соответствии с протоколами ATCC. Для рутинного анализа эти клетки высевали при плотности, которые обеспечивали около 90% конfluence после 7 дней культивирования. Клетки лимфомы Беркитта Raji человека, (сMYC), высевали в 96-луночный планшет с плотностью 15000 клеток на лунку. Клетки линии HL-60 промиелоцитарного лейкоза человека (NRAS, p16, p53, амплифицированный с-Мус) высевали в 96-луночный планшет с плотностью 5000 клеток на лунку. Клетки линии NCI-H460 немелкоклеточного рака легкого человека (KRAS, PIK3CA, STK11, p16) высевали в 96-луночный планшет с плотностью 3000 клеток на лунку.

Затем, через 24 ч после высевания в клетки вносили тестируемое соединение в 11-точечном разведении, при этом конечная концентрация изменялась в диапазоне от 100 мкМ до 2,0 нМ. Клетки инкубировали в присутствии соединения в течение 168 ч при 37°C и в атмосфере 5% CO_2 . В конце этого периода инкубации 80 мкл среды удаляли и добавляли 20 мкл раствора для анализа пролиферации CellTiter 96® Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay solution (Promega). Клетки инкубировали до достижения оптической плотности $\text{OD}_{490} > 0,6$. Значения IC_{50} рассчитывали с использованием программного пакета IDBS XLfit и включали значения OD_{490} с вычитанием фона и нормализацию к контролям DMSO. Значения IC_{50} для клеточной пролиферации загружали и архивировали с использованием платформы Chem Biography Platform.

Данные IC_{50} для 4-[2-(циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-она в этих анализах *in vitro* являются следующими:

BRD4	IC_{50}	Raji	IC_{50}	HL-60	IC_{50}	H460	IC_{50}
(мкМ)		(мкМ)		(мкМ)		(мкМ)	
	≤ 5 мкМ		≤ 5 мкМ		≤ 5 мкМ		> 5 мкМ

Пример 3. Фармакология *in vitro*.

Регулирование экспрессии гена MYC бромодоменсодержащим белком 4 (BRD4) показано в моделях лимфомы Беркитта с ингибированием BRD4, приводящим к остановке роста (Mertz, 2011). Аналогично, в модели аденокарциномы легкого было обнаружено, что ингибирование BRD4 является антипролиферативным; однако этот эффект был приписан снижению экспрессии FOSL1 (Lockwood, 2012). Было также показано, что BRD4 регулирует экспрессию гена GLI1, тем самым модулируя сигнальный путь Hh, который, как известно, разрегулирован в некоторых типах рака. (Tang, 2014). Влияние терапии соединением А на экспрессию генов MYC, FOSL1 и GLI1 оценивали с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (qRT PCR). Терапия Соединением А ингибировала экспрессию гена MYC в клетках Raji лимфомы Беркитта со значением средней полумаксимальной ингибирующей концентрации (IC₅₀) 0,06 мкМ; экспрессию гена FOSL1 в клетках глиобластомы U 87 со значением IC₅₀ 0,03 мкМ; и экспрессию гена GLI1 в клетках аденокарциномы поджелудочной железы MIA-PaCa-2 со значением IC₅₀ 0,24 мкМ.

Соединение А продемонстрировало *in vitro* ингибирование роста опухолевых клеток с использованием антипролиферативных двумерных (2-D) культур с клеточными линиями и ингибирование образования колоний с использованием трехмерных (3-D) культур органоидов с клетками из опухолевых моделей PDX GBM и PDX-моделей рака молочной железы.

Эффект Соединения А на образование колоний в четырнадцати PDX-моделях опухолей GBM оценивали с использованием анализа нейросферы *in vitro*. Соединение А тестировали при концентрациях в диапазоне от 0,0003 до 20 мкМ с 3-кратными приращениями. Образование колоний оценивали после семи дней лечения путем подсчета числа колоний методом микроскопии. Соединение А ингибировало образование колоний дозозависимым образом с получением средних значений полумаксимальной ингибирующей концентрации (IC₅₀) ± стандартная ошибка среднего (SEM) в диапазоне от 0,11±0,04 до 2,00±0,40 мкМ и охватывающей диапазон 18-кратной активности. Общее среднее значение для моделей GBM составило 0,62±0,13 мкМ.

Эффект Соединения А на образование колоний в четырех PDX-моделях рака молочной железы оценивали с использованием 3-D системы культивирования *in vitro* на основе Matrigel. Соединение А тестировали при концентрациях в диапазоне от 0,008 до 5 мкМ или от 0,0016 до 1 мкМ с 5-кратными приращениями. Образование колоний оценивали через 7 дней или 14 дней лечения путем подсчета числа колоний методом микроскопии. Соединение А ингибировало образование колоний дозозависимым образом с получением среднего значения IC₅₀ для моделей опухолей, негативных по рецептору эстрогена BR0869f (ER), негативных по рецептору прогестерона (PR) и позитивных HER2/neu (ER-PR-Her2+), равного 0,12±0,01 мкМ, и значений IC₅₀ для моделей COH69, COH71 и TNBR3 тройного негативного рака молочной железы (TNBC), равных 0,07 мкМ, 0,18±0,02 мкМ и 0,08±0,00 мкМ соответственно. Общее среднее значение для трех моделей TNBC составило 0,11±0,04 мкМ.

Пример 4. Фармакология *in vivo*.

В исследованиях на мышах Соединение А продемонстрировало дозозависимое ингибирование роста опухоли (TGI) в полученных от пациентов ксенотрансплантатах (PDX) опухолей TNBC и GBM. Кроме того, используя анализы предельного разведения, было продемонстрировано уменьшение частоты появления опухоль-иницирующих клеток (TIC) после лечения Соединением А (выполнено с использованием режима ежедневного дозирования и не включено в заявку на проведение клинических испытаний (Clinical Trial Application)).

Различные дозы и режимы дозирования Соединения А оценивали доклинически. Соединение А, дозируемое в режиме 3 дня прием/4 дня лекарственные каникулы, показало эффективность TGI, эквивалентную эффективности, наблюдаемой при режимах непрерывного дозирования, а также улучшенную переносимость по сравнению со режимами непрерывного дозирования. Масса тела, токсичности со стороны желудочно-кишечного тракта (GI) и костного мозга (BM) оказались полностью обратимыми благодаря режимам дозирования с меньшей частотой, и восстановление было подходящим для еженедельного повторного дозирования.

Лечение мышей, несущих COH70, опухоль TNBC PDX, Соединением А в дозе 2 мг/кг или 10 мг/кг привело к снижению экспрессии MYC. Соединение А в дозе 2 мг/кг максимально подавляло экспрессию MYC на 51,3% через 2 ч, при этом экспрессия MYC восстанавливалась до контрольных уровней через 8 ч после введения дозы. Соединение А в дозе 10 мг/кг максимально подавляло экспрессию MYC на 63,4% через 4 ч; однако экспрессия MYC не восстанавливалась до контрольных уровней через 24 ч после введения дозы. Соответствующие концентрации Соединения А в опухоли определяли в модели COH70 через 2, 4 и 8 ч после введения дозы. Максимальные измеренные уровни Соединения А в опухоли наблюдались через 2 часа после введения и составили 1,3±0,3 и 6,7±1,7 мкМ при 2 и 10 мг/кг соответственно. Модулирование уровней экспрессии MYC коррелировали с внутриопухолевыми концентрациями Соединения А.

Было отмечено, что имелось значительное TGI в подкожной PDX-модели TNBC у мышей NOD/SCID гамма (NSG) при дозах Соединения А 12,5, 16 и 20 мг/кг. Введение осуществляли перорально

через желудочный зонд один раз в сутки (QD) в течение трех последовательных дней с последующими четырьмя днями лекарственных каникул (обозначено как 3×/неделю на фиг. 1) (3×/неделю = три последовательных дня введения дозы Соединения А раз в сутки с последующими 4 днями лекарственных каникул; PO = перорально, SEM = стандартная ошибка среднего), каждую неделю в течение шести недель. Соединение А хорошо переносилось вплоть до суточной дозы, составляющей 25 мг/кг. Когда объемы опухолей измеряли на День 38 по сравнению с контролем-носителем, средний процент TGI подвергнутых лечению опухолей составил 64% для группы 12,5 мг/кг/доза, 68% для группы 16 мг/кг/доза и 72% для 20 мг/кг/доза. Средний вес тела увеличился во всех группах. Фармакокинетические параметры в стационарном состоянии определяли после введения конечных доз для уровней доз 12,5 и 16 мг/кг. Площадь под кривой зависимости концентрации в плазме от времени в период от 0 до 24 ч ($AUC_{0-24 \text{ ч}}$) Соединения А при 12,5 мг/кг составила 12,003 нг·ч/мл и при 16 мг/кг составила 15,174 нг·ч/мл.

В подкожной модели PDX GBM, GBM15, эффективность Соединения А была продемонстрирована на нескольких режимах дозирования, от дозирования 5 раз QD в неделю до двух раз в неделю в течение 4 недель (фиг. 2) (PO = перорально, SEM = стандартная ошибка среднего). Мышей, несущих опухоли, дозировали перорально QD согласно нескольким режимам дозирования, при этом кумулятивная недельная доза Соединения А для каждого режима дозирования составила 75 мг/кг. Режимы дозирования представляют собой следующие:

- 15 мг/кг Соединения А в течение 5 последовательных дней и 2 дня лекарственных каникул (5/2),
- 25 мг/кг Соединения А в течение 3 последовательных дней и 4 дня лекарственных каникул (3/4),
- 37,5 мг/кг Соединения А в течение 2 последовательных дней и 5 дней лекарственных каникул (2/5).

Когда объемы опухолей измеряли на День 29 и сравнивали с контролем-носителем, средний процент TGI подвергнутых лечению опухолей составил 65% для группы, получавшей дозу 15 мг/кг (5/2), 65% для группы, получавшей дозу 25 мг/кг (3/4) и 70% для группы, получавшей дозу 37,5 мг/кг (2/5). Минимальная потеря веса наблюдалась во всех группах (группа, получавшая носитель = -1,2%, группа, получавшая дозу 15 мг/кг = -6,6%, группа, получавшая 25 мг/кг = -3,7%, и группа, получавшая 37,5 мг/кг = -3,1%).

Изучены модели ксенотрансплантатов NUT-карциномы (NUT Midline Carcinoma, NMC) у мышей. Когорты попарно подобранных мышей с развившимися опухолями рандомизировали на лечение тестируемым соединением (соединением А или темозоломидом или составом, содержащим Соединение А и темозоломид) или носителем, вводимым путем ежедневной интраперитонеальной инъекции. Перед рандомизацией и после 4 дней терапии мышей оценивали путем визуализации методом позитронно-эмиссионной томографии PET с использованием радиофармпрепарата 18F-фтордезоксиглюкозы (FDG). Измеряли объем опухоли, токсичность или потерю веса.

Опухоли получали, рассекали и исследовали иммуногистохимически на онкобелок BRD4-NUT, распространение клеток, экспрессию кератина, окрашивание Ki67 ядер и TUNEL. Парные образцы от подвергнутых лечению и не подвергнутых лечению мышей готовили и анализировали с использованием стандартизованных протоколов и коммерчески доступного программного обеспечения (т.е. ImageScout; Aperio Technologies).

Пример 5. Противоопухолевая эффективность в модели ксенотрансплантата рака молочной железы MCF-7.

Гранулы с замедленным высвобождением, содержащие 0,72 мг 17- β -эстрадиола, подкожно имплантировали *nu/nu* мышам. Клетки MCF-7 выращивали в среде RPMI, содержащей 10% FBS в атмосфере 5% CO₂, 37°C. Клетки центрифугировали и ресуспендировали в 50% RPMI (без сыворотки) и 50% Matrigel при 1×10^7 клеток/мл. Клетки MCF-7 подкожно инъецировали (100 мкл/животное) в правый бок через 2-3 дня после имплантации гранул, а объем опухоли ((длина \times ширина)/2) контролировали раз в две недели. Когда опухоли достигали среднего объема $\sim 200 \text{ мм}^3$, животных рандомизировали и начинали лечение. Животных подвергали лечению тестируемым соединением или носителем ежедневно в течение 4 недель. Объем опухоли и вес тела контролировали раз в две недели на протяжении всего исследования. По завершении периода лечения образцы плазмы и опухоли брали для фармакокинетических и фармакодинамических анализов, соответственно.

Пример 6. Противоопухолевая эффективность в модели клеточной линии Raji, линии клеток человеческой лимфомы Беркитта.

Процедура: Мышиным самкам SCID CB17 (6-8 недель, Charles River Laboratories) инокулировали подкожно в правую боковую область клетки Raji (при $3,5 \times 10^6$ клеток/мышь) и опухоль оставляли расти примерно до 150 мм^3 . Мышей затем рандомизировали в лечебные когорты (N=8) и подвергали лечению перорально один раз в день носителем-контролем или тестируемым соединением в течение 21 дня. Тестируемое соединение вводили в виде суспензии в 1% Tween 80, 40% PEG400 и либо: 59% 0,5%-ного НРМС или 9% DMSO + 50% 0,5%-ного НРМС в дозах от 5 до 50 мг/кг. Длину и ширину опухолей измеряли в миллиметрах три раза в неделю. Объемы опухолей рассчитывали по формуле $V=L \times W \times W/2$. Ингибирование роста опухоли (TGI) рассчитывали по формуле $TGI=100-(\text{средний объем опухоли лечебной группы}/\text{средний объем опухоли группы контроля-носителя}) \times 100$. Измерения TGI выполняли до тех пор,

пока объем опухоли в контрольной группе не достиг 3000 мм³. Статистический анализ проводили с использованием двустороннего критерия Стьюдента. Значения $P < 0,05$ считались статистически значимыми. Было установлено, что TGI колеблется от 42 до 80%.

Пример 7. Синергические эффекты Соединения А и темозоломида в темозоломид-резистентной модели ксенотрансплантата GBM.

O⁶-Метилгуанилметилтрансфераза (MGMT) вовлечена в резистентность GBM (мультиформная глиобластома) к алкилирующему повреждающему ДНК агенту темозоломиду (TMZ). GBM3 представляет собой подкожную модель GBM PDX с высокой экспрессией MGMT, определенной при помощи PCR, неметилированным промотором MGMT и имеет фенотип, резистентный к TMZ. В предыдущих исследованиях нейросфер, культивированных из GBM3, анализ RT-PCR показал, что Соединение А дозозависимым образом снижает экспрессию MGMT. Когда мышам, несущим GBM3, вводили однократную дозу Соединения А при 20 мг/кг, qRT-PCR выявила снижение экспрессии MGMT во взятой опухоли. Это привело к проведению эксперимента на эффективность, чтобы понять, может ли Соединение А сенситивизировать TMZ-резистентный GBM к TMZ и проявлять синергические эффекты по сравнению с каждым из соединений, вводимых отдельно.

Когорты мышей NSG, несущих GBM3, подвергали лечению TMZ в дозе 50 мг/кг путем интраперитонеальной инъекции (IP)×3 Q2 недель; Соединением А в дозе 6 мг/кг перорально два раза в сутки (BID) или в дозе 12 мг/кг перорально один раз в сутки или комбинацией Соединения А в дозе 6 мг/кг перорально BID и TMZ в дозе 50 мг/кг IP×3 Q2 недель. Значительные величины ингибирования роста опухолей, измеренные по объемами опухолей, наблюдались после дозирования взятого в отдельности Соединения А или в комбинации с TMZ (фиг. 3). Только взятый в отдельности TMZ не индуцировал значительного TGI при его отдельном введении (3%). Взятое в отдельности Соединение А индуцировало значительное ингибирование роста опухоли (TGI), составляющее 63% (12 мг/кг QD) и 76% (6 мг/кг BID). Однако комбинация Соединения А и TMZ продемонстрировала синергический эффект и значительно превосходила все другие схемы с точки зрения TGI. Умеренная потеря веса наблюдалась во время части исследования (самая низкая потеря -5,1%) в группе, получавшей комбинированное лечение; но потеря веса восстановилась, и все лечебные группы показали чистый прирост среднего веса тела в конце исследования.

Пример 8. Пероральная лекарственная форма.

Таблетку изготавливали путем смешивания 48 мас.% Соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, 45 мас.% микрокристаллической целлюлозы, 5 мас.% низкозамещенной гидроксипропилцеллюлозы и 2 мас.% стеарата магния.

Таблетки изготавливали прямым прессованием. Общий вес прессованных таблеток поддерживали на уровне 250-500 мг.

Пример 9. Неклиническая фармакокинетика и метаболизм лекарственного средства.

Как описано здесь, была проведена серия исследований *in vitro* и *in vivo* для характеристики абсорбции, PK, распределения, метаболизма и элиминации Соединения А. Надежные и воспроизводимые биоаналитические методы для количественного определения уровней Соединения А были разработаны и применялись в PK и токсикокинетических исследованиях. Параметры PK для человека и воздействия были прогнозированы с использованием аллометрического масштабирования.

Фармакокинетику и пероральную биодоступность Соединения А оценивали у крыс Sprague-Dawley и собак Beagle. Системный клиренс был низким (приблизительно от 5 до 13% от печеночного кровотока) у самцов и самок крыс, но самцы показали примерно в 2 раза более высокий клиренс, чем самки. Объем распределения варьировался примерно 1-3-кратно от общего объема воды в организме, что указывало на распределение Соединения А в ткани. Средняя пероральная биодоступность Соединения А составляла 40% у крыс и 76% у собак. Из-за половых различий в системном клиренсе между самцами и самками крыс и для определения сопоставимого системного воздействия в токсикологических исследованиях, дозы Соединения А, вводимые крысам-самцам, были в 3 раза выше, чем у крысиных самок. Токсикокинетика Соединения А у крыс и собак не выявила половых различий в системном воздействии, показала пропорциональное дозе увеличение системного воздействия, отсутствие накопления у крыс и вплоть до 3-кратного накопления у собак после повторного дозирования. Соединение А показало ограниченное распределение в головном мозге, при этом отношения мозга к плазме составили от 0,14 до 0,16 у несущих опухоль мышей NSG.

На основании аллометрически полученных параметров PK и предположения о 62%-ной пероральной биодоступности (среднее значение, наблюдаемое у доклинических видов) можно предположить, что прогнозируемое системное воздействие в стационарном состоянии (AUC_{0-24h}) Соединения А у человека после еженедельного (3 дня прием/4 дня лекарственные каникулы) введения пероральной дозы 15 мг может варьироваться от 731 до 2263 нг·ч/мл.

В плазме, полученной от доклинических видов (89,9-93,3%) и источников человеческого происхождения (90,2%), заметных различий в связывании белков плазмы с Соединением А не наблюдалось.

Метаболизм Соединения А оценивали *in vitro* с использованием гепатоцитов человека и идентифи-

цировали один метаболит, а именно N-десметильное производное.

Этот метаболит наблюдался в гепатоцитах крыс, собак и обезьян. Не было обнаружено уникальных метаболитов человека. Исследования с использованием рекомбинантных ферментов цитохрома P450 (CYP) дают основание предположить, что множество ферментов CYP (CYP2C9, CYP2C19 и CYP3A4) способны метаболизировать Соединение А; однако относительный вклад отдельных ферментов является неизвестным.

In vitro, Соединение А не ингибирует CYP1A2 и CYP3A4. Соединение А вызывало ингибирование CYP2C9, CYP2C19 и CYP2D6 со значениями IC_{50} 13,9, 26,7 и 54,3 мкМ, соответственно. В гепатоцитах Соединение А (до 10 мкМ) не является индуктором CYP1A2, CYP2B6 и CYP3A4. Следовательно, при клинически значимых концентрациях имеется минимальная вероятность того, что Соединение А будет вызывать межлекарственные взаимодействия с совместно вводимыми препаратами, которые являются субстратами CYP.

У крыс после внутривенного (IV) введения не меченного радиоактивным изотопом Соединения А в среднем 0,9% дозы выводилось в неизменном виде с желчью или с мочой, что указывает на то, что выведение лекарственного средства в неизменном виде не является основным путем элиминации и что метаболизм может играть важную роль в распределении Соединения А.

Пример 10. Неклиническая токсикология.

Соединение А оценивали в поисковых токсикологических и генетических токсикологических исследованиях, не соответствующих требованиям GLP, и в соответствующих требованиям GLP исследованиях токсичности при повторном введении (≤ 4 -недельное доклиническое токсикологическое исследование). 4-Недельные исследования пероральной токсичности (с 4-недельным периодом восстановления), соответствующие требованиям GLP, проводили у крыс (0, 5, 10 или 20 мг основание/кг/доза для самок и 0, 15, 30 или 60 мг основание/кг/доза для самцов) и собак Beagle (0, 1,75, 3,75 или 7,5 мг основание/кг/доза). Схема дозирования состояла во введении раз в сутки в течение трех последовательных дней с последующими четырьмя последовательными днями лекарственных каникул, каждую неделю в течение в общей сложности четырех недель.

У крыс основными тканями-мишенями токсического воздействия являются ткани, образующие желудочно-кишечный тракт (GI), костный мозг, лимфоидные органы, семенники и кость. У собак основными тканями-мишенями токсического воздействия являются ткани, образующие GI тракт, костный мозг, лимфоидные органы и семенники.

В четырехнедельном исследовании на крысах доза, составляющая ≥ 20 мг основание/кг/доза, представляла собой опасную токсическую дозу. Эта доза приводила к смерти или умерщвлению умирающих животных уже на День 6, что в конечном итоге привело к прекращению дозирования и умерщвлению на День 11 группы выживших животных (самцов), получавших 60 мг основание/кг/доза; и прекращению дозирования и умерщвлению на День 11 группы выживших животных (самок) (N=9), получавших 20 мг основание/кг/доза, или началу фазы восстановления для (N=4). Смерти, связанные с Соединением А, отсутствовали при дозах ниже 20 мг основание/кг/доза. Отсутствовали какие-либо неблагоприятные явления при низком уровне доз (5 мг основание/кг/доза [самки], 15 мг основание/кг/доза [самцы]).

Что касается токсичности, на основании результатов целого ряда клинических, лабораторных, макропатологических и гистопатологических исследований, опасная токсическая доза у 10% крыс (STD10) составила 20 мг основание/кг/доза у самок и 30 мг основание/кг/доза у самцов. Для любого клинического исследования основной дозой, вызывающей токсичность у 10% животных (STD10), следует считать 20 мг основание/кг/доза. Из-за отсутствия неблагоприятных результатов максимальная доза, не приводящая к развитию явных нежелательных эффектов (NOAEL) у самок составила 5 мг/кг/доза, и у самцов 15 мг/кг/доза. Для любого клинического исследования основной NOAEL следует считать 5 мг основание/кг/доза. Эти величины применяют к режиму дозирования Соединения А, предусматривающему три дня введения/четыре дня лекарственных каникул. Оценка восстановления животных показала, что все результаты, связанные с тестируемым препаратом, были обратимыми через 4 недели после прекращения дозирования (за исключением результатов, связанных с семенником, которые не могли быть оценены из-за умерщвления группы умирающих самцов, получавших 60 мг основание/кг/доза, первоначально предназначенных для оценки обратимости).

Также проводили оценки фармакологической безопасности, т.е. батареи стандартных тестов (FOB), для определения потенциальных эффектов Соединения А на центральную нервную систему в качестве части четырехнедельного исследования GLP токсического воздействия при повторном введении у крыс. Эффектов FOB, связанных с Соединением А, не наблюдалось.

В четырехнедельном исследовании на собаках Beagle опасная токсическая доза составила 7,50 мг основание/кг/доза. Эта доза привела к умерщвлению умирающих животных (четыре самца и одной самки) уже на День 11, что в конечном итоге привело к прекращению дозирования в группе выживших самцов, получавших 7,50 мг основание/кг/доза, и началу фазы восстановления группы выживших самцов, получавших 7,50 мг основание/кг/доза. Смертельных исходов, связанных с Соединением А, не наблюдалось при дозах ниже 7,50 мг основание/кг/доза, но были получены результаты, связанные с Соеди-

нением А, при всех оцененных дозах.

На основании результатов ряда клинических, лабораторных, макропатологических и гистопатологических исследований доза, равная 3,75 мг основание/кг/доза, была установлена как самая высокая неопасная токсическая доза (HNSTD); NOAEL не было идентифицировано. Эти величины применяли к режиму дозирования, предусматривающему три дня прием/четыре дня лекарственные каникулы. При самой низкой дозе (1,75 мг основание/кг/доза) неблагоприятные результаты ограничивались пониженной массой тимуса и тестикулярной/эпидидимальной токсичностью. Оценка восстановившихся животных показала, что все результаты, связанные с тестируемым препаратом, были обратимыми через четыре недели после прекращения дозирования, за исключением результатов, связанных с яичком и эпидидимисом.

Оценки фармакологической безопасности проводили для определения потенциальных эффектов Соединения А на сердечно-сосудистую и дыхательную систему у бодрствующих собак Бигль в рамках четырехнедельного исследования GLP токсического воздействия при повторном введении. Эффектов, связанных с Соединением А, на электрокардиограммы, частоту сердечных сокращений или частоте дыхания, не наблюдалось.

В исследовании *in vitro* гена специфических калиевых каналов сердца человека (hERG) было идентифицировано значение IC₅₀, равное 24,3 мкМ.

В тесте Эймса на обратную мутацию бактерий, не соответствующем требованиям GLP, было определено, что Соединение А является немутагенным.

В целом, Соединение А демонстрирует профиль безопасности в доклинических видах, приемлемый для применения в качестве кандидата в клинических исследованиях онкологических заболеваний, и токсикологическая программа для Соединения А адекватно поддерживает проведение клинических исследований на пациентах, имеющих рак.

Пример 11. Безопасность и переносимость Соединения А у человека.

Соединение А представляет собой новый исследуемый препарат, который имеет веский биологический аргумент в пользу лечения субъектов, имеющих солидные опухоли и NHL. Безопасность и переносимость Соединения А у человека, а также биологическую и клиническую активность оценивают в клиническом исследовании.

Поскольку никаких клинических исследований с применением Соединения А не проводилось, профили эффективности и безопасности Соединения А у человека являются неизвестными. Потенциальные токсичности для Соединения А идентифицированы на основе доклинических исследований с применением Соединения А. Профили безопасности двух ингибиторов BET, протестированных в I фазе исследований, впервые проводимых на человеке (FHN), показали хорошую переносимость при непрерывном ежедневном дозировании в течение 14 дней в каждом 21-дневном цикле, при этом основной DLT являлась тромбоцитопения (Abramson, 2015; Herait, 2015), или в качестве DLT наблюдалась токсичность со стороны GI тракта (главным образом диарея) (Dombret, 2014; Herait, 2015).

Частота и масштаб оценок безопасности, предложенных для Соединения А-ST-001, являются характерными для исследования FHN и согласуются с данными токсикологических исследований Соединения А у крыс и собак. У крыс и собак основными тканями-мишенями токсического воздействия являются GI тракт, костный мозг, лимфоидные органы и яички. Общие данные доклинических и гистопатологических исследований свидетельствуют о том, что система GI может быть основной мишенью опосредованной Соединением А токсичности.

Частый ранний мониторинг веса, статуса гидратации, содержания электролитов в сыворотке крови, частоты и тяжести диареи и рвоты, а также эпизодов боли в животе (желудочной, кишечной) у субъектов является важной частью плана мониторинга безопасности и реализации агрессивной симптоматической терапии тошноты, рвоты или диареи с ранним началом (например, 1-й степени). На основании морфологических изменений, сглаживания кишечных ворсинок и эрозий слизистой оболочки, наблюдаемых в GI тракте крыс и собак, субъекты с синдромами мальабсорбции, активной язвы/гастрита или повторяющихся эпизодов GI кровотечения будут отстранены от регистрации для участия в исследовании. По усмотрению исследователя для защиты слизистой оболочки пищевода/желудка будут рекомендованы агенты, покрывающие слизистую оболочку, а также мониторинг субъектов на GI кровотечение. Субъектам будет предложено сообщать о случаях дискомфорта или боли в GI, потере аппетита или крови в стуле.

Обнаружение гипоцеллюлярности костного мозга и обеднения лимфоидной ткани (тимуса, селезенки, лимфатических узлов) подчеркивают важность частого контроля общего анализа крови, с подсчетом тромбоцитов и дифференцировкой лейкоцитов (WBC). Субъектов будут контролировать на возможную токсичность с помощью стандартных и специализированных лабораторных тестов, включая полный анализ крови, протромбиновое время (PT)/активированное частичное тромбопластиновое время (APTT)/международное нормализованное отношение (INR) и биохимический анализ сыворотки.

Временные изменения уровня глюкозы в крови наблюдались лишь в нескольких случаях в доклинических токсикологических исследованиях с применением Соединения А. Кроме того, в предварительных данных клинического исследования нового экспериментального препарата BETi, OTX015, сообщается, что 7 из 37 пациентов с нелейкозными формами гематологических злокачественных новообразова-

ний имели гипергликемию 1-2 степени, и 1 пациент испытывал гипергликемию 3 степени (Thieblemont, 2014). Неизвестно, может ли наблюдаться гипергликемия в случае применения Соединения А у человека, и стандартные лабораторные анализы будут включать измерения глюкозы натощак. Общие руководства по управлению возможной гипергликемией представлены на фиг. 7.

Результаты гистопатологических исследований яичек и эпидидимиса самцов крыс и собак будут гарантировать запрет на донорство спермы и усыновление детей на время клинического исследования, а также в течение как минимум 3 месяцев после последней дозы исследования. Гистологических поражений в репродуктивных органах животных-самок в доклинических исследованиях не наблюдалось. Значимость этого доклинического обнаружения, а также потенциального и относительного клинического риска в настоящее время остается неизвестной. Исследования отдаленных эффектов токсичности и репродуктивной токсичности не проводились для Соединения А. Субъекты должны будут следовать рекомендациям по предупреждению беременности, описанным в настоящем документе.

Поскольку данное исследование представляет собой исследование ФН, субъекты с историей сердечной недостаточности, ишемической болезни сердца, неконтролируемой гипертензии, серьезных сердечных аритмий или длительного интервала QT на ECG будут исключены из регистрации. Для всех подвергаемых исследованию субъектов потребуются подтверждение по адекватной фракции выброса левого желудочка (>45%) на исходном уровне.

Как подробно описано в настоящем документе, исследование проводится в двух частях: эскалация дозы (часть А) и расширение когорт (часть В).

В части А модель байесовской логистической регрессии (BLRM), использующая эскалацию дозы с контролем передозировки (EWOC), контролирует повышения дозы до предполагаемой MTD для соединения А. Babb 1998, Neuenschwander 2008. Традиционные дизайны увеличения дозы (например, "3+3", "rolling six", ускоренное титрование) разработаны для цитотоксических агентов, и решения по увеличению дозы основаны на показателях токсичности, при этом в основе лежит предположение о том, что эффективность и токсичность растут с увеличением дозы. Более современные молекулярно-таргетные препараты могут иметь различные кривые доза-токсичность и дозы-эффективность, и дизайн, основанный на использовании не только данных о токсичности, может быть более эффективным для определения рекомендуемой дозы. Tourneau et al., 101 J. Natl. Cancer Inst. 708 (2009); Ivy et al., 16 Clin. Cancer Res. 1726 (2010).

Подход, основанный на статистической модели (BLRM с EWOC), позволяет использовать доклинические данные в сочетании с наблюдаемыми клиническими данными (например, токсичности, фармакодинамику, фармакокинетику, эффективность и т.д.) при назначении каждому субъекту уровня дозы и может потенциально уменьшать количество субъектов, подвергаемых лечению в субтерапевтических или непереносимых дозах. Tourneau et al., 7 PLoS ONE e51039 (2012). Использование EWOC обеспечивает правила или ограничения, чтобы избежать дозирования за пределами MTD. Дополнительные детали дизайна представлены ниже. Один или несколько режимов дозирования и/или поднаборов заболеваний могут быть выбраны для расширения когорт в части В для получения дополнительной информации о безопасности и эффективности для более крупных когорт субъектов (до приблизительно 20 субъектов в каждой когорте).

Исходя из доз и воздействий, при которых возникали основные, связанные с лечением эффекты, в исследованиях согласно GLP на 4-недельных крысах и собаках оба вида оказались одинаково чувствительными к токсическим действиям, связанным с введением Соединения А. Предложенная начальная доза Соединения А для человека составляет 15 мг, которую вводят один раз в сутки в течение трех последовательных дней с последующими четырьмя последовательными днями лекарственных каникул, каждую неделю (режим дозирования 3/7 дней). Эта доза Соединения А была рассчитана с использованием подхода, описанного в ICH Harmonised Tripartite Guideline S9, Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals (2009), и приведена в обобщенном виде в таблице 3:

Таблица 3

Предложенная клиническая начальная доза Соединения А на основе опасной токсической дозы, вызывающей острую токсичность у 10% крыс, и самой высокой неопасной токсической дозы у собак в 1-месячном исследовании токсичности

Виды	STD10 крыс или HNSTD собак (мг основ./кг)	НED (мг основ./кг)	НED (мг основ./кг)	Фактор безоп.	НED/Фактор безоп-ти (мг основ.) ^а	Предложенная клинич. нач.доза (мг основ.) ^б
Крыса	20	3.2	194	10	19	15

Собака	3.75	2.1	125	6	21	
<p>HED = эквивалентная доза для человека; HNSTD = самая высокая неопасная токсическая доза; STD10 = опасная токсическая доза, вызывающая острую токсичность у 10% животных. ^aНа основе коэффициента перевода HED для индивидуума весом 60 кг из руководства FDA Guidance for Industry "Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers" (FDA, 2005) и ICH S9 Guideline "Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals." ICH, 2009. ^bИспользуя аллометрические оценки клиренса из плазмы (мл/ч/кг) и объема распределения (л/кг) и принимая за X% пероральную биодоступность (исходя из среднего значения от доклинических видов), прогнозируемые C_{max} и AUC_{24h} при предполагаемой начальной дозе для человека, равной 15 мг, являются приблизительными.</p>						

См. также CDER, Guidance for Industry: Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers (July 2005).

Предлагаемая стартовая доза для человека ниже 1/10-й STD10 у крыс, ниже 1/6-й HNSTD у собак и считается безопасной на основании многократных воздействий (по данным измерений AUC) у крыс и собак по сравнению с прогнозируемым воздействием на человека в дозе 15 мг Соединения А в виде основания. Как указано в табл. 1, прогнозируется, что воздействие на человека Соединения А в виде основания в дозе 15 мг находится в диапазоне от 736 до 2263 нг·ч/мл; эти значения примерно в 23-272 раза ниже, чем среднее воздействие, соответствующее STD10 для крыс (52800 нг·ч/мл) и примерно в 4-14 раз ниже среднего воздействия, соответствующего HNSTD для собак (10000 нг·ч/мл). На основании этих токсикокинетических данных можно предположить, что предложенная стартовая доза для человека, равная 15 мг Соединения А в виде основания, будет безопасной.

Ключевой поисковой целью данного исследования является идентификация дозы Соединения А, которая является не только безопасной, но и проявляет фармакологическую активность. Был идентифицирован набор генов, экспрессия которых уменьшается при *ex vivo* лечении соединением А в мононуклеарных клетках периферической крови (PBMC) и в цельной крови. В настоящем исследовании изменения в экспрессии этих генов в цельной крови или других генов в биопсийных образцах опухолей могут обеспечить подтверждение того, что доза является фармакологически активной и помочь распознать, какая доза показывает наиболее высокую фармакологическую активность.

Предиктивные биомаркеры позволяют осуществить проспективную идентификацию пациентов, которые наиболее вероятно получат клиническую пользу от применения Соединения А в виде индивидуального агента или в комбинации с другими агентами. Хотя предиктивные диагностические анализы в текущем исследовании носят поисковый характер, они выявляют связи между биомаркерами и ответами, что может обеспечить основу для будущих диагностически управляемых исследований.

Различные типы опухолей выбирали для расширения когорт, получающих определенную дозу Соединения А, в части В, в зависимости от результатов, полученных в части А исследования, доклинической эффективности и вспомогательной литературы. Что касается обратимого ингибитора членов семейства BET, в часть В расширения когорт отбирали субъектов с местнораспространенной базальноклеточной карциномой (BCC).

BRD4 и другие бромодоменные белки BET регулируют транскрипцию GLI1 ниже SMO, при этом BRD4 напрямую занимает промоторы GLI1 и GLI2. Tang, 2014. Этот захват может быть ингибирован ингибиторами BET, и ингибитор BET, JQ1, уменьшает пролиферацию опухолевых клеток *in vitro* и *in vivo* в Nh-управляемых опухолях, даже тех, которые являются устойчивыми к ингибированию SMO. Tang, 2014. Следовательно, требуется клиническое исследование ингибитора BET у субъектов с местнораспространенной или метастатической BCC с *de novo* или приобретенной резистентностью. Аналогично, требуется клиническое исследование ингибитора BET, Соединения А, в отношении противоопухолевой активности в различных злокачественных опухолях. В этом примере предлагается исследование Соединения А у человека, разработанное для оценки безопасности и фармакокинетических профилей лекарственного средства при различных уровнях доз/режимах дозирования, а также для детекции начальных сигналов эффективности лекарственного средства для ускорения разработки 2 фазы клинических исследований.

Более конкретно, исследование Соединения А включает открытое, фазы 1а, впервые проводимое на человеке (FII) клиническое исследование с эскалацией дозы и расширением когорт Соединения А у субъектов с распространенными солидными опухолями, или рецидивными или рефрактерными NHL. В части исследования, относящейся к эскалации дозы (часть А), исследуют увеличивающиеся пероральные дозы Соединения А для оценки MTD и/или RPTD Соединения А. Модель BLRM, использующая EWOC (см. Vabb, 1998; Neuenschwander 2008), содействует принятию окончательных решений об эскалации дозы Соединения А Комитетом по обзору научных проектов (SRC). В части исследования (часть В), относящейся к расширению когорт, кроме того, оценивают безопасность и эффективность Соединения А, вводимого при MTD или ниже, в выбранных расширенных когортах, состоящих приблизительно из 20 поддающихся оценке субъектов, для дополнительного определения RP2D. Один или более режимов до-

зирования или поднаборов заболеваний может быть выбрано для расширения когорт. Части А и В состоят из трех периодов: скрининг, терапия и период последующего наблюдения (см. фиг. 4). Цели исследования изложены в кратком виде в табл. 1, и конечные точки исследования представлены в кратком виде в табл. 2.

Как правило, период скрининга начинается за 28 дней до первой дозы Соединения А. Документ информированного согласия (ICD) подписывается и датируется субъектом и административным персоналом до начала любых других процедур исследования. Все скрининговые тесты и процедуры завершаются в течение 28 дней до первой дозы Соединения А.

Во время лечебного периода составы, содержащие Соединение А, сначала вводят перорально раз в сутки в течение трех последовательных дней с последующими четырьмя последовательными днями лекарственных каникул, каждую неделю (режим дозирования три/семь дней) в каждом четырехнедельном цикле. Альтернативные режимы дозирования (например, два дня прием/пять дней лекарственные каникулы, каждую неделю) изучаются на основе анализа SRC имеющихся данных о безопасности, PK, фармакодинамике (PD) и эффективности. В части А, описанной ниже, окно для оценки дозолIMITирующей токсичности (DLT) будет составлять 28 дней (четыре недели) во время цикла 1.

В период последующего наблюдения всех субъектов наблюдают в течение 28 дней (± 2 дня) на безопасность после последней дозы Соединения А. Субъекты, которые прекращают лечение по причинам, отличным от прогрессирования заболевания (или рецидива), начинают новую противоопухолевую терапию или отзывают информированное согласие на участие во всем исследовании, подвергаются оценке заболевания, проводимой в соответствии с установленной схемой оценки опухоли, до прогрессирования или начала новых системных противоопухолевых терапий. После визита последующего наблюдения для оценки безопасности всех субъектов наблюдают каждые последующие три месяца (\pm две недели) для оценки выживаемости вплоть до двух лет или до наступления смерти, утраты контакта для последующего наблюдения или завершения исследования, в зависимости от того, какое событие наступит первым.

Для части А, эскалации дозы, минимум трех субъектов отбирают для каждого уровня дозы. Начальная доза Соединения А составляет 15 мг. Модель BLRM с EWOC объединяет имеющуюся априорную информацию по безопасности и обновляет параметры модели после завершения каждой новой когорты субъектов цикла 1. Решение о следующей дозе принимает SRC на основании оценки риска с использованием BLRM и имеющейся информации по безопасности (т.е. данных по безопасности DLT и не-DLT), PK, PD и эффективности. Кроме того, в оценке могут быть использованы соответствующие неклинические данные (например, исследования токсичности GLP, фармакология *in vivo* из моделей ксенотрансплантатов и т.д.). Ниже приводится подробная информация о статистической методологии.

Во все моменты времени принятия решения BLRM допускает изменения шага повышения дозы исходя из наблюдаемых показателей DLT. Однако доза для следующей когорты не будет превышать 100% увеличения от предыдущей дозы. Максимально переносимая доза (MTD) является самой высокой дозой, которая с малой вероятностью (апостериорная вероятность $< 25\%$) будет вызывать DLT $\geq 33\%$ подвергнутых лечению субъектов в первом цикле лечения Соединением А. SRC принимает окончательное решение относительно дозы Соединения А для каждой когорты.

Во время эскалации дозы доза Соединения А может быть объявлена максимально переносимой дозой (MTD) и/или рекомендуемой дозой 2 фазы (RP2D) после выполнения следующих условий:

- по меньшей мере шесть поддающихся оценке субъектов было подвергнуто лечению при этой дозе;
- апостериорная вероятность целевой токсичности при указанной дозе превышает 60% и является самой высокой среди увеличивающихся доз, или как минимум 21 субъект был подвергнут лечению в рамках исследования; и

доза рекомендуется в соответствии с BLRM, и SRC одобряет ее.

SRC включает исследователей (или назначенных представителей), врача-исследователя спонсора, врача, ответственного за безопасность лекарственного средства, специалиста по статистической обработке данных исследования и руководителя исследования. Специально для данного случая привлеченные участники могут включать специалиста по фармакокинетике и дополнительных специалистов по клиническим исследованиям. Другие штатные и внештатные эксперты могут обращаться за консультацией в SRC при необходимости.

Решение, касающееся оценки дополнительных субъектов в пределах когорты субъектов, получающих определенную дозу; когорты субъектов, получающей более высокую дозу; когорт, получающих промежуточную дозу; меньшего шага повышения дозы; альтернативных режимов дозирования (например, два дня прием/пять дней лекарственные каникулы, каждую неделю) или объявления MTD также принимается SRC на основании оценки BLRM и анализа доступной информации по безопасности (т.е. данных по DLT и не-DLT), PK, PD и эффективности. Окончательное решение принимает SRC.

После введения первой дозы в любой когорте во время эскалации дозы субъектов в каждой когорте наблюдают в течение 28 дней (цикл 1, окно DLT) перед тем, как перейти к когорте субъектов, получающих следующую дозу. В данную когорту эскалации дозы отбирают не более одного субъекта в день. Субъектов, не поддающихся оценке на DLT, заменяют. Субъект, поддающийся оценке на DLT, опреде-

ляется как субъект, который

получил по меньшей мере 10 из 12 доз (или $\geq 80\%$ от общей планируемой интенсивности доз) Соединения А во время цикла 1, без испытывания DLT; или
испытывал DLT после получения по меньшей мере одной дозы Соединения А.

Эскалация дозы у одного и того же субъекта не допускается во время периода оценки DLT. Однако в циклах ≥ 3 субъектам без признаков прогрессирования заболевания, которые переносят назначенную им дозу Соединения А, можно (по усмотрению исследователя и после консультации с медицинским наблюдателем исследования) повысить дозу до самого высокого уровня, которая, как было доказано, адекватно переносится по меньшей мере одной когортой субъектов в этом исследовании (т.е. когда риск передозировки составляет менее 25% согласно оценке BLRM).

Что касается части В расширения когорты, то после завершения эскалации дозы (часть А) когорты субъектов с выбранным типом опухоли включают в фазу расширения (часть В), при этом каждая когорта состоит примерно из 20 поддающихся оценке субъектов. Расширение может происходить при MTD и режиме дозирования, установленном в фазе эскалации дозы, или при альтернативной переносимой дозе и режиме дозирования на основе анализа полученных в части А данных по безопасности, PK, PD и эффективности. SRC выбирает представляющие интерес дозы и режимы для расширения когорты. Один или несколько режимов дозирования могут быть выбраны для расширения когорты. SRC продолжает анализировать данные по безопасности регулярно на протяжении всего исследования и дает рекомендации относительно продолжения исследования и модификации дозы, по необходимости.

Что касается набора исследуемой популяции, в исследование включают мужчин и женщин в возрасте 18 лет или старше с распространенными или неоперабельными солидными опухолями и рецидивными или рефрактерными NHL (DLBCL и iNHL). Предполагается, что набор займет приблизительно 30 месяцев (от 12 до 18 месяцев для эскалации дозы и от девяти до двенадцати месяцев для расширения). Ожидается, что завершение активного лечения и последующее наблюдение займет дополнительно от 4 до 28 месяцев. Предполагается, что длительность всего исследования составит около четырех лет. Окончание исследования определяется как дата последнего визита последнего субъекта для завершения последующего наблюдения после окончания лечения или как дата получения последних данных для последнего субъекта, требуемых для первичного, вторичного и/или поискового анализа, как предварительно указано в протоколе.

Лечение в рамках исследования может быть прекращено, если имеется свидетельство клинически значимого прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности или решение субъекта/врача об исключении из исследования. Субъекты могут продолжать получать исследуемое лекарственное средство после прогрессирования заболевания по усмотрению исследователя по итогам консультации с медицинским наблюдателем.

По меньшей мере в одном варианте осуществления Соединение А составлено в виде таблеток для перорального введения. Маркировка является соответствующей, например, для исследовательского использования в соответствии с положениями соответствующего органа здравоохранения страны.

Для основных оценок эффективности субъектов оценивали на эффективность после каждых двух циклов до цикла 6 и после этого каждые три цикла. Всех субъектов, которые прекращают лечение по причинам, отличным от прогрессирования заболевания, начинают новую противоопухолевую терапию или отзывают информированное согласие на участие во всем исследовании, наблюдают до прогрессирования или начала новых системных противоопухолевых терапий.

Ответ опухоли определяет исследователь. Для солидных опухолей оценка основана на Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST 1.1). Eisenhauer et al., 45 Eur. J. Cancer 228 (2009). Для NHL оценка основана на International Working Group Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. Cheson et al., 25 J. Clin. Oncol. 579 (2007). Позитронно-эмиссионная томография (PET) с [^{18}F]-флуородоокси-глюкозой (FDG) или визуализация FDG PET/CT требуется для подтверждения полного ответа у субъектов с опухолями с повышенным накоплением FDG.

Переменные безопасности для этого исследования включают нежелательные явления, клинические лабораторные переменные безопасности, электрокардиограмму в 12 отведениях, оценку общего состояния по шкале Восточной объединенной онкологической группы, оценку фракции выброса левого желудочка, медицинские осмотры, основные показатели состояния организма, воздействие лечения в рамках исследования, оценку сопутствующих лекарственных препаратов и тест на беременность для женщин, способных к деторождению. Профили PK Соединения А определяют из собранных серийных образцов крови.

Поскольку никаких клинических исследований с применением Соединения А не проводилось, профили эффективности и безопасности Соединения А у человека являются неизвестными. Потенциальные токсичности для Соединения А идентифицированы на основе доклинических исследований с применением Соединения А. Частота и масштаб оценок безопасности, предложенных для Соединения А-ST-001, являются характерными для исследования FHN и согласуются с данными токсикологических исследований Соединения А у крыс и собак. У крыс и собак основными тканями-мишенями токсического воздей-

ствия являются GI тракт, костный мозг, лимфоидные органы и яички. Общие данные доклинических и гистопатологических исследований свидетельствуют о том, что желудочно-кишечная система может быть основной мишенью опосредованной Соединением А токсичности.

Частый ранний мониторинг веса, статуса гидратации, содержания электролитов в сыворотке крови, частоты и тяжести диареи и рвоты, а также эпизодов боли в животе (желудочной, кишечной) у субъектов является важной частью плана мониторинга безопасности и реализации агрессивной симптоматической терапии тошноты, рвоты или диареи с ранним началом (например, 1-й степени). На основании морфологических изменений, сглаживания кишечных ворсинок и эрозий слизистой оболочки, наблюдаемых в GI тракте крыс и собак, субъекты с синдромами мальабсорбции, активной язвы/гастрита или повторяющихся эпизодов GI кровотечения будут исключены из исследования. По усмотрению исследователя для защиты слизистой оболочки пищевода/желудка будут рекомендованы агенты, покрывающие слизистую оболочку, а также мониторинг субъектов на GI кровотечение. Субъектам будет предложено сообщать об эпизодах дискомфорта или боли в GI, потере аппетита или крови в стуле.

Поскольку данное исследование представляет собой исследование FIIH, субъекты с историей сердечной недостаточности, ишемической болезни сердца, неконтролируемой гипертензии, серьезных сердечных аритмий или длительного интервала QT на ECG будут исключены из регистрации. Для всех подвергаемых исследованию субъектов потребуется подтверждение по адекватной фракции выброса левого желудочка (>45%) на исходном уровне. Отступления от протокола не разрешаются во время проведения этого испытания ни при каких обстоятельствах.

Обнаружение гипоцеллюлярности костного мозга и обеднения лимфоидной ткани (тимуса, селезенки, лимфатических узлов) подчеркивают важность частого контроля общего анализа крови, с подсчетом тромбоцитов и дифференцировкой лейкоцитов (WBC). Субъектов будут контролировать на возможную токсичность с помощью стандартных и специальных лабораторных тестов, включая полный анализ крови, протромбиновое время (PT)/активированное частичное тромбопластиновое время (APTT)/международное нормализованное отношение (INR) и биохимический анализ сыворотки.

Результаты гистопатологических исследований яичек и эпидидимиса самцов крыс и собак будут гарантировать запрет на донорство спермы и усыновление детей на время клинического исследования, а также в течение как минимум 3 месяцев после последней дозы исследования. Гистологических поражений в репродуктивных органах животных-самок в доклинических исследованиях не наблюдалось, хотя значимость этого была неизвестной. Исследования отдаленных эффектов токсичности и репродуктивной токсичности не проводились для Соединения А. Субъекты должны будут следовать рекомендациям по предупреждению беременности.

Фармакодинамические (PD) оценки описаны ниже. Первичная цель этого исследования состоит в оценке безопасности и переносимости лечения фармацевтическими составами, содержащими Соединение А, включая определение MTD или RP2D. Методом анализа для оценки MTD является модель BLRM, основанная на принципе EWOC (Babb, 1998; Neuenschwander, 2008).

Статистический анализ будет проводиться по уровню дозы (часть А) и когорте пациентов с определенным типом опухоли (часть В) по мере необходимости или применимости. Все анализы будут носить описательный характер. Все сводные данные по безопасности будут получены с использованием субъектов, получающих Соединение А (подвергнутая лечению популяция). Данные исследования обобщены по характеристикам распределения, демографическим и исходным характеристикам, воздействию, эффективности, безопасности, PK и PD. Категориальные данные обобщены по плотности распределения (количество и процентная доля пациентов), и непрерывные данные обобщены по описательной статистике (среднее значение, стандартное отклонение, медиана, минимум и максимум).

Нежелательные явления, возникшие на фоне лечения (TEAE), обобщены по степеням тяжести в соответствии с критериями National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Event grades. Частота TEAE представлена в виде таблицы по классу системного органа и предпочтительному термину в соответствии с Медицинским словарем терминологии регулятивной деятельности (Medical Dictionary for Regulatory Activities). К нежелательным явлениям TEAE степени 3 или 4 относятся TEAE, приводящие к прекращению приема Соединения А; TEAE, связанные с исследуемым лекарственным средством; и серьезные нежелательные явления (SAE), сгруппированы отдельно. Обобщены изменения от исходного состояния по данным лабораторных исследований анализов, жизненно важных показателей, ЭКГ в отведениях и сканирования ECHO/MUGA. Все данные представлены в списках по субъектам.

Первичной переменной эффективности является DCR. Механизм действия (mode of action, MoA) соединения может привести к SD и контролю заболевания, однако PFS и OS могут служить в качестве дополнительных оценок эффективности. Хотя OOS и PFS обычно не оценивают в FIIH, введение Соединения А может привести к Sds и ответам (например, в случаях NHL). Контроль заболевания определяется как ответы опухолей CR, PR и SD (оцениваемые исследователями). Сообщаются точечные оценки и 95%-ные доверительные интервалы DCR. Частоту объективных ответов (определяемую как процент пациентов, лучшим ответом которых является полный ответ или частичный ответ), продолжительность ответа/стабилизацию заболевания, выживаемость без прогрессирования заболевания и общую выживаемость обобщают с использованием таблиц частоты повторений для категориальных переменных или

описательной статистики для непрерывных переменных. Анализ эффективности повторяют для подвергнутой лечению популяции (Treated Population) и популяции, поддающейся оценке на эффективность (Efficacy Evaluable Population) (субъекты, которые получили оценку заболевания в исходном состоянии, по меньшей мере один цикл лечения в рамках исследования и одну оценку заболевания в период исследования), при этом результат с использованием популяции, подвергнутой лечению, считался основным.

Во время части А эскалации дозы отбирают примерно 30-40 субъектов. Во время части В расширения когорт отбирают сначала по меньшей мере 14 субъектов, поддающихся оценке на эффективность, для каждой когорты субъектов, имеющих определенный тип опухоли. Если частота ответа составляет 20% или более, существует более чем 95%-ный шанс того, что один или несколько субъектов, ответивших на лечение, будут наблюдаться среди первых 14 субъектов, что подлежит статистическому обновлению на основе изменения DCR в качестве основного показателя эффективности. Gehan, 13 J. Chronic Dis. 346 (1961). Если среди 14 субъектов не наблюдается субъекта, ответившего на лечение, то набор для этой когорты субъектов с определенным типом опухоли останавливают из-за отсутствия эффективности. В противном случае, когорту субъектов с определенным типом опухоли расширяют приблизительно до 20 субъектов в случае, если наблюдается субъект, ответивший на лечение.

Более конкретно, Соединение А оценивают в открытом, фазы 1а, впервые проводимом на человеке (FHN) клиническом исследовании с эскалацией дозы и расширением когорт у субъектов с распространенными солидными опухолями, или рецидивными или рефрактерными NHL. В части исследования, относящейся к эскалации дозы (часть А), исследуют увеличивающиеся пероральные дозы Соединения А для оценки MTD и/или RPTD Соединения А. Модель BLRM, использующая EWOC (см. Babb, 1998; Neuenschwander 2008), содействует принятию окончательных решений об эскалации дозы Соединения А Комитетом по обзору научных проектов (SRC). В части исследования (часть В), относящейся к расширению когорты, кроме того, оценивают безопасность и эффективность Соединения А, вводимого при MTD или ниже, в выбранных расширенных когортах, состоящих приблизительно из 20 поддающихся оценке субъектов, для дополнительного определения RP2D. Один или более режимов дозирования и/или поднаборов заболеваний может быть выбрано для расширения когорты. Части А и В состоят из трех периодов: скрининг, терапия и период последующего наблюдения (см. фиг. 4).

Как уже отмечалось, период скрининга начинается за 28 дней до первой дозы Соединения А. Документ информированного согласия (ICD) подписывается и датируется субъектом и административным персоналом до начала любых других процедур исследования. Все скрининговые тесты и процедуры должны быть завершены в течение 28 дней до первой дозы Соединения А. Во время лечебного периода Соединение А сначала вводят перорально раз в сутки в течение трех последовательных дней с последующими четырьмя последовательными днями лекарственных каникул, каждую неделю (режим дозирования три/семь дней) в каждом четырехнедельном цикле. Альтернативные режимы дозирования (например, два дня прием/пять дней лекарственных каникулы, каждую неделю) могут быть рассмотрены на основе анализа SRC имеющихся данных о безопасности, PK, PD и эффективности. В части А окно для оценки дозолIMITирующей токсичности (DLT) будет составлять 28 дней (четыре недели) во время цикла 1. В период последующего наблюдения всех субъектов наблюдают в течение 28 дней (± 2 дня) на безопасность после последней дозы Соединения А. Субъекты, которые прекращают лечение по причинам, отличным от прогрессирования заболевания (или рецидива), начинают новую противоопухолевую терапию или отзывают информированное согласие на участие во всем исследовании, подвергаются оценке заболевания, проводимой в соответствии с установленной схемой оценки опухоли, до прогрессирования или начала новых системных противоопухолевых терапий. После визита последующего наблюдения для оценки безопасности всех субъектов наблюдают каждые последующие три месяца (\pm две недели) для оценки выживаемости вплоть до двух лет или до наступления смерти, утраты контакта для последующего наблюдения или завершения исследования, в зависимости от того, какое событие наступит первым.

Для части А, эскалации дозы, минимум трех субъектов отбирают для каждого уровня дозы. Начальная доза Соединения А составляет 15 мг. Модель BLRM с EWOC объединяет имеющуюся априорную информацию по безопасности и обновляет параметры модели после завершения каждой новой когорты субъектов цикла 1. Решение о следующей дозе принимает SRC на основании оценки риска с использованием BLRM и имеющейся информации по безопасности (т.е. данных по безопасности DLT и не-DLT), PK, PD и эффективности. Кроме того, в оценке могут быть использованы соответствующие неклинические данные (например, исследования токсичности GLP, фармакология in vivo из моделей ксенотрансплантатов и т.д.). Подробная информация о статистической методологии представлена в приложении Н.

Во все моменты времени принятия решения BLRM допускает изменения шага повышения дозы исходя из наблюдаемых показателей DLT; однако доза для следующей когорты не будет превышать 100% увеличение от предыдущей дозы. Максимально переносимая доза (MTD) является самой высокой дозой, которая с малой вероятностью (апостериорная вероятность <25%) будет вызывать DLT у $\geq 33\%$ подвергнутых лечению субъектов в первом цикле лечения Соединением А. SRC принимает окончательное ре-

шение относительно дозы Соединения А для каждой когорты.

Во время эскалации дозы доза Соединения А может быть объявлена максимально переносимой дозой (MTD) и/или рекомендуемой дозой 2 фазы (RP2D) после выполнения следующих условий:

по меньшей мере шесть поддающихся оценке субъектов было подвергнуто лечению при этой дозе; апостериорная вероятность целевой токсичности при указанной дозе превышает 60% и является самой высокой среди увеличивающихся доз или как минимум 21 субъект был подвергнут лечению в рамках исследования; и

доза рекомендуется в соответствии с BLRM, и SRC одобряет ее.

SRC включает исследователей (или назначенных представителей), врача-исследователя спонсора, врача, ответственного за безопасность лекарственного средства, специалиста по статистической обработке данных исследования и руководителя исследования. Специально для данного случая привлеченные участники могут включать специалиста по фармакокинетике и дополнительных специалистов по клиническим исследованиям. Другие штатные и внештатные эксперты могут обращаться за консультацией в SRC, при необходимости.

Решение касается оценки дополнительных субъектов в пределах когорты субъектов, получающих определенную дозу; когорты субъектов, получающих более высокую дозу; когорты, получающих промежуточную дозу; меньшего шага повышения дозы; альтернативных режимов дозирования (например, два дня прием/пять дней лекарственные каникулы, каждую неделю) или объявления MTD, также определяются SRC на основании оценки BLRM и анализа доступной информации по безопасности (т.е. данных по DLT и не-DLT), PK, PD и эффективности.

После введения первой дозы в любой когорте во время эскалации дозы субъектов в каждой когорте наблюдают в течение 28 дней (цикл 1, окно DLT) перед тем, как перейти к когорте субъектов, получающих следующую дозу. В данную когорту эскалации дозы отбирают не более одного субъекта в день. Субъектов, не поддающихся оценке на DLT, заменяют. Субъект, поддающийся оценке на DLT, определяется как субъект, который:

получил по меньшей мере 10 из 12 доз (или $\geq 80\%$ от общей планируемой интенсивности доз) Соединения А во время цикла 1, без испытывания DLT; или

испытывал DLT после получения по меньшей мере одной дозы Соединения А.

Эскалация дозы у одного и того же субъекта не допускается во время периода оценки DLT. Однако в циклах ≥ 3 субъектам без признаков прогрессирования заболевания, которые переносят назначенную им дозу Соединения А, можно (по усмотрению исследователя и после консультации с медицинским наблюдателем исследования) повысить дозу до самого высокого уровня, которая, как было доказано, адекватно переносится по меньшей мере одной когортой субъектов в этом исследовании (т.е. когда риск передозировки составляет менее 25% согласно оценке BLRM).

Что касается части В расширения когорты, то после завершения эскалации дозы (часть А) когорты субъектов с выбранным типом опухоли включают в фазу расширения (часть В), при этом каждая когорта состоит примерно из 20 поддающихся оценке субъектов. Расширение может происходить при MTD и режиме дозирования, установленном в фазе эскалации дозы, или при альтернативной переносимой дозе и режиме дозирования на основе анализа полученных в части А данных по безопасности, PK, PD и эффективности. SRC выбирает представляющие интерес дозы и режимы для расширения когорты. Один или несколько режимов дозирования могут быть выбраны для расширения когорты. SRC продолжает анализировать данные по безопасности регулярно на протяжении всего исследования и дает рекомендации относительно продолжения исследования и модификации дозы, по необходимости.

График оценок показан в табл. 4, и оценки описаны ниже. Переменные безопасности для этого исследования включают нежелательные явления, клинические лабораторные переменные безопасности, электрокардиограмму в 12 отведениях, оценку общего состояния по шкале Восточной объединенной онкологической группы, оценку фракции выброса левого желудочка, медицинские осмотры, основные показатели состояния организма, воздействие лечения в рамках исследования, оценку сопутствующих лекарственных препаратов и тест на беременность для женщин, способных к деторождению. Субъектов оценивают на эффективность после каждых двух циклов до цикла 6, и после этого каждые три цикла. Всех субъектов, которые прекращают лечение по причинам, отличным от прогрессирования заболевания, начинают новую противоопухолевую терапию или отзывают информированное согласие на участие во всем исследовании, наблюдают до прогрессирования или начала новых системных противоопухолевых терапий.

Кровь собирают в указанные моменты времени для определения профилей PK Соединения А и для поисковых оценок PD. Парные биопсийные образцы опухолей для анализа биомаркеров активности лечения являются необязательными в фазе эскалации дозы, но обязательными в фазе расширения когорты.

Исследование проводят в соответствии с Международной конференцией по гармонизации (ICH) технических требований к регистрации лекарственных препаратов для использования у человека/Правилами проведения качественных клинических исследований (GCP) и Требованиями регуляторных органов.

Предполагается, что набор займет приблизительно 30 месяцев (от 12 до 18 месяцев для эскалации дозы и от 9 до 12 месяцев для расширения). Ожидается, что завершение активного лечения и последующее наблюдение займут дополнительно от 4 до 28 месяцев. Предполагается, что длительность всего исследования составит около четырех лет.

Окончание исследования определяется как дата последнего визита последнего субъекта для завершения последующего наблюдения после окончания лечения или как дата получения последних данных для последнего субъекта, требуемых для первичного, вторичного и/или поискового анализа, как предварительно указано в протоколе, в зависимости от того, какая из этих дат является более поздней.

В этом примере предлагается многоцентровое открытое исследование, в которое будет набрано приблизительно 30-40 пациентов в часть А (эскалации дозы). В часть В (расширения когорты) до 20 поддающихся оценке субъектов может быть набрано в каждую из выбранных расширяемых когорты. Набор будет происходить приблизительно в 4-6 центрах в Европе для части А. Набор в часть В может включать дополнительные центры в США и Европе.

Что касается критериев включения, субъекты должны удовлетворять критериям, указанным ниже, для включения в фазу эскалации дозы (часть А) данного исследования:

1. Мужчины и женщины в возрасте ≥ 18 лет на момент подписания документа информированного согласия (ICD).

2. Субъект должен понимать и добровольно подписать ICD до начала проведения любых оценок/процедур, связанных с исследованием.

3. Субъект имеет желание и способен соблюдать график визитов и другие требования протокола исследования.

4. Субъекты с гистологическим или цитологическим подтверждением распространенных неоперабельных солидных опухолей или iNHL (DLBCL и iNHL), включая тех, у кого наблюдается прогрессирование (или непереносимость вследствие сопутствующих медицинских заболеваний или неприемлемой токсичности) на фоне стандартной противораковой терапии, или для которых не существует другой одобренной традиционной терапии.

5. По меньшей мере один очаг поддающегося измерению заболевания ($>1,5$ см по длинной оси или $>1,0$ см как по длинной, так и по короткой оси) должен присутствовать у субъектов с солидными опухолями и iNHL.

6. Субъект согласен на обязательные биопсийные исследования опухоли (скрининг и цикл 1) в части В. Для части А биопсийные исследования опухоли являются необязательными.

7. Общее состояние по шкале ECOG от 0 до 1.

8. Субъекты должны иметь следующие лабораторные показатели при скрининге:

абсолютное количество нейтрофилов (ANC) $\geq 1,5 \times 10^9/\text{л}$ без поддержки факторами роста в течение 7 дней (14 дней, если субъект получал пегфилграстим);

гемоглобин (Hgb) ≥ 9 г/дл (≥ 8 г/дл для субъектов с NHL);

количество тромбоцитов (plt) $\geq 75 \times 10^9/\text{л}$ ($\geq 50 \times 10^9/\text{л}$ без переливания в течение 7 дней для субъектов с NHL);

концентрация калия в сыворотке в нормальном диапазоне или поддается коррекции с помощью пищевых добавок;

уровень аспартатаминотрансферазы (AST/SGOT) и аланинаминотрансферазы (ALT/SGPT) в сыворотке крови $\leq 3,0 \times$ верхняя граница нормы (ULN) или $\leq 5,0 \times \text{ULN}$, если присутствуют метастазы печени;

уровень общего билирубина в сыворотке крови $\leq 1,5 \times \text{ULN}$ или $\leq 2 \times \text{ULN}$, если присутствуют метастазы печени;

уровень креатинина в сыворотке крови $\leq 1,5 \times \text{ULN}$ или 24-часовой клиренс креатинина ≥ 50 мл/мин, измеренный с использованием уравнения Кокрофта-Голта;

субъекты с документально подтвержденными метастазами печени должны иметь сывороточный альбумин ≥ 3 г/дл;

INR $< 1,5 \times \text{ULN}$ и PTT $< 1,5 \times \text{ULN}$.

9. Женщины, обладающие репродуктивным потенциалом (FCBP), должны:

полностью воздерживаться от гетеросексуального контакта (что подлжет ежемесячному перемотру и должно быть зафиксировано в первичных документах) или согласны применять и способны выполнять по меньшей мере два эффективных метода контрацепции (пероральный, инъекционный или имплантируемый гормональный контрацептив; стерилизация маточных труб, внутриматочное устройство, барьерный контрацептив со спермицидным средством или вазэктомированный партнер), один из которых должен служить барьером, с момента подписания ICD на протяжении всего исследования и до 28 дней или до трех месяцев после последней дозы Соединения А; и

иметь два отрицательных теста на беременность, заверенных исследователем, до начала приема Соединения А:

отрицательный анализ крови на беременность (чувствительность по меньшей мере 25 мМЕ/мл) при скрининге;

отрицательный анализ крови и мочи на беременность (по усмотрению исследователя) в течение 72 ч до цикла 1 Дня -1 исследования;

избегать зачатия в течение трех месяцев после последней дозы Соединения А;

дать согласие на продолжение диагностики беременности во время курса исследования и после окончания лечения в рамках исследования. Это относится даже к тем случаям, если субъект практикует полное воздержание² от гетеросексуального контакта.

10. Мужчины должны практиковать полное воздержание (что подлежит ежемесячному пересмотру) или быть согласны использовать презерватив (рекомендуется использовать латексный презерватив) во время сексуального контакта с беременной женщиной или ФСВР и избегать зачатия с момента подписания ICD, во время участия в исследовании, во время прерываний приемов доз и в течение по меньшей мере 3 месяцев после прекращения приема Соединения А, даже если он был подвергнут успешной вазэктомии.

Женщиной, обладающей репродуктивным потенциалом, является половозрелая женщина, которая:

1) не подвергалась гистерэктомии (хирургическому удалению матки) или двусторонней овариэктомии (хирургическому удалению обоих яичников) или

2) не находится в естественном периоде постменопаузы в течение по меньшей мере 24 последовательных месяцев (например, имела менструации в любое время в течение предшествующих 24 последовательных месяцев).

Полное воздержание является приемлемым, когда оно согласуется с предпочитаемым и привычным образом жизни субъекта. Периодическое воздержание (например, календарный, овуляционный, симптоматермальный, постовуляционный методы) и прерванный половой акт не являются приемлемыми методами контрацепции.

Присутствие любого из перечисленного ниже будет исключать участие субъекта в фазе включения субъектов в исследование:

1) пациент получал противораковую терапию (одобренную или исследовательскую) в течение ≤ 4 недель или 5 периодов полувыведения, в зависимости от того, что короче, перед подписанием ICD;

2) токсические явления вследствие предшествующих системных терапий рака должны быть разрешены до \leq Степени 1 NCI CTCAE до начала лечения Соединением А. Периферическая невропатия \geq Степени 2 NCI CTCAE;

3) субъект получал аутологичную трансплантацию гематологических стволовых клеток (HSCT) за ≤ 3 месяца или аллогенный HSCT за ≤ 6 месяцев до начала лечения Соединением А;

6-месячный исключаящий период для восстановления от токсичности, связанной с HSCT, применяется независимо от того, была ли выполнена аутологичная или аллогенная трансплантация;

4) субъект подвергался серьезной хирургической операции за ≤ 4 недели или незначительной операции за ≤ 2 недели до подписания ICD, или который не восстановился после хирургической операции;

5) субъект завершил любую лучевую терапию за < 4 недели до подписания ICD;

6) субъект имеет постоянную диарею вследствие синдрома мальабсорбции (например, целиакия-спру или воспалительное заболевание кишечника) \geq Степени 2 NCI CTCAE несмотря на лечение, или любое другое значительное нарушение GI, которое может повлиять на абсорбцию Соединения А;

7) субъекты с симптоматическими или неконтролируемыми язвами (желудка или двенадцатиперстной кишки), особенно с историей и/или риском прободения и кровотечений GI тракта;

8) симптоматические или нестабильные метастазы центральной нервной системы субъекты, недавно подвергнутые облучению всего головного мозга или стереотаксической радиохирургии метастазов CNS, должны завершить терапию по меньшей мере за 4 недели до цикла 1, Дня 1, и иметь контрольные КТ или МРТ головного мозга, сделанные в период последующего наблюдения, демонстрирующую стабильные или улучшающиеся метастазы через 4 или более недель после завершения лучевой терапии (последнее должно быть получено как часть скринингового обследования);

9) быстро пролиферирующие солидные опухоли высокой степени злокачественности (например, мелкоклеточный рак легкого, эмбрионально-клеточные опухоли, нейробластома) со значительной опухолевой нагрузкой (> 10 см по сумме диаметров поддающихся измерению очагов поражения) и LDH $>$ ULN;

10) известный симптоматический острый или хронический панкреатит;

11) нарушенные функции сердца или клинически значимые заболевания сердца, включая любое из следующего:

фракция выброса левого желудочка (LVEF) $< 45\%$, определенная с помощью радионуклидной ангиографии (MUGA) или эхокардиограммы (ECHO);

полная блокада левой ножки предсердно-желудочкового пучка или двухпучковая блокада;

врожденный синдром удлинённого интервала Q-T;

устойчивые или клинически значимые желудочковые аритмии или фибрилляция предсердий;

QTcF ≥ 470 мс при скрининге ЭКГ (среднее значение записей, сделанных в трех повторах);

нестабильная стенокардия или инфаркт миокарда за ≤6 месяцев до начала приема Соединения А; другие клинически значимые заболевания сердца, такие как застойная сердечная недостаточность, требующая лечения, или неконтролируемая гипертония (артериальное давление ≥ 160/95 мм.рт.ст.);

12) беременные или кормящие женщины;

13) известная ВИЧ-инфекция;

14) известная вирусная инфекция хронического активного гепатита В или С (HBV, HCV):

пациенты, которые являются сероположительными вследствие вакцинации против HBV, имеют право на участие в исследовании;

пациенты, которые не имеют активной вирусной инфекции и получают адекватные профилактические средства против повторной активации HBV, имеют право на участие в исследовании;

может быть рассмотрен допуск для НСС в отношении HCV;

15) текущее лечение путем длительного терапевтического дозирования антикоагулянтов (например, варфарин, низкомолекулярный гепарин, ингибиторы фактора Ха). Допускается низкомолекулярный гепарин для поддержания проходимости катетера;

16) история одновременного присутствия других типов рака, требующих активного, текущего системного лечения;

17) субъекты с историей клинически значимого когнитивного нарушения(й) или активного когнитивного нарушения(й);

18) субъект имеет какое-либо значительное нарушение здоровья (например, активную или неконтролируемую инфекцию, или болезнь почек), отклонение лабораторных показателей от нормы или психическое заболевание, которые будут препятствовать участию пациента (или нарушать приверженность лечению) в исследовании, или будут подвергать субъекта неприемлемому риску в случае участия ее/его в исследовании;

19) субъекты с историей клинически значимого когнитивного нарушения(й) или активного когнитивного нарушения(й); и

20) субъект имеет любое состояние, препятствующее интерпретации данных, полученных в ходе исследования.

Что касается процедур, вопросы относительно протокола должны быть направлены медицинскому наблюдателю или назначенному лицу. Процедуры, проведенные для каждого субъекта, включенного в исследование, изложены в табл. 4.

Таблица 4

События

	Скрининг	Лечебный период												Период последующего наблюдения		
		Цикл 1				Циклы 2-4				Циклы 5+		ЕОТ	Безоп ^b	Длит. ^c		
		Нед.1	Нед.2	Нед.3	Нед.4	Нед.1	Нед.2	Нед.3	Нед.4	Нед.1	Нед.3					
События ^a	День с -28 по -1	Д1	Д2	Д3	Д8	Д15	Д22	Д1	Д8	Д15	Д22	Д1	Д15	≤ 28 Д	28 Д ±2 Д	q3 м (±2 нед)
Включение в исследование																
Информированное согласие и консультация по контрацептивным средствам	X															
Информированное согласие на необязательные поисковые анализы/сбор образцов для РК	X															
Критерии включения/исключения	X															
Медицинская/онкологическая история и терапии	X															
Демографические данные	X															
IRT регистрация	X	X												X		
Предшествующие/сопутствующие лекарственные препараты, процедуры	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	

Исследуемое лекарственное средство																
Введение перорального Соединения А согласно назначенному режиму дозирования ^d																
Ведение/анализ дневника пациента		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Оценки безопасности																
Оценка нежелательных явлений	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Рост	X															
Вес	X	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Основные показатели состояния организма	X	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X			
Медицинский осмотр	X	X						X				X				
ECOG PS	X	X						X				X				
ЭКГ в 12 отведениях (однократно или в трех повторах) ^e	X (≥72 ч до D1)							X (D17 только)						X		X
LVEF (ECHO/MUGA)	X							X (C2 только ±7д)					X (C5 только ±7д)		X (±7д)	
Тест на беременность (FCBP только)	X	X						X					X		X	
Общий анализ крови	X (D -14 по -1)	X			X	X	X	X	X C2 только о	X	X (C2 только)	X		X		
Хим. лаборатория с анализами LDH, мочевой кислоты	X (D -14 по -1)	X			X	X	X	X	X C2 только о	X	X (C2 только)	X		X		
PT, INR, PTT	X (D -14 по -1)	X			X	X	X	X	X C2 только о	X	X (C2 только)	X		X		
Амилаза, липаза, поднаборы Т-клеток (CD4+ и CD8+), TSH		X							X (C2 только о)				X (q3 cycl C5, C8, C1 etc.)		X	
Анализ мочи	X (D -14 по -1)	X							X				X		X	
Оценки PK и PD																
Кровь, PK		X	X					X D17-18								
CSF, PKf								X D17								
Кровь (цельная), фармакогеномика		X														
Кровь (цельная), ген PAX для PAK		X	X													
Биопсия опухоли ^g	X (D -7 по -1)							X D16 или D17								
Архивный образец ткани (FFPE)		X														
Эффективность																
Оценки солидной опухоли /NHL: визуализация КТ/МРТ ^h	X										X (D28 ±7д; C2 & C4)	X (D28 ± 7д в C6, затем q3 циклов, т.е. конец C9, C12, и т.д.)		X		
NHL-специфическая оценка костного мозга, если известно или предполагается вовлечение костного мозга	X ⁱ										X D28 ±7д в C2	X, только при подтверждении и CR		X		
NHL-специфическое: сканирование FDG PET или PET/CT (не требуется, если опухоль является FDG-негативной)	X											X, при подтверждении и CR				
Дополнительное последующее наблюдение																
Последующее наблюдение после противоопухолевых терапий															X	X
Последующее наблюдение для оценки SAE															X	
Последующее наблюдение для оценки выживаемости																X

Сокращения:

β-hCG = бета-человеческий хорионический гонадотропин;
 ВММС = моноклеарные клетки костного мозга;
 С = цикл;
 СК = креатинкиназа;
 CSF = спинномозговая жидкость;
 СТ = компьютерная томография;
 D = день(дни);
 ЭХО = эхокардиограмма;
 ECOG Восточная объединенная онкологическая группа;
 FCBP = женщины, обладающие репродуктивным потенциалом;
 FFPE = фиксированные в формалине, заключенные в парафин;
 fT4 = свободный T4;
 INR = международное нормализованное отношение;
 IRT = интерактивная технология связи;
 LVEF = фракция выброса левого желудочка;
 mo = месяцы;
 MUGA = радионуклидная ангиография;
 PK = фармакокинетика;
 PT = протромбиновое время;
 PTH = паратиреоидный гормон;
 PTT = частичное тромбопластиновое время;
 q = каждые;
 TSH = тиреотропный гормон;
 WK(s) = неделя(и).

^a Все визиты/процедуры исследования будут иметь окно ± 2 дня и все образцы крови для лабораторных анализов будут брать перед дозированием, если не указано иное.

^b Эта оценка безопасности в период последующего наблюдения может быть сделана по телефону.

^c Последующее наблюдение для оценки выживаемости в течение до 2 лет или до момента смерти, или окончания исследования, в зависимости от того, что наступит в первую очередь. Может быть выполнено путем анализа записей (включая публичные записи) и/или путем контакта по телефону с пациентом, семьей или лечащим врачом.

^d Показаны не все дни дозирования Соединения А. Режи дозирования включает сначала 3 последовательных дня введения Соединения А и 4 последовательных дня лекарственных каникул, каждую неделю (схема 3/7 дней). Альтернативные режимы дозирования могут быть реализованы на основании решений SRC.

^e Скрининг в трех повторах ECG необходимо выполнить за >72 ч перед дозированием на День 1 таким образом, чтобы результаты центрального считывания были доступными для анализа.

^f Необязательно для субъектов с первичным или метастатическим поражением CNS и шунтом или резервуаром. Рекомендуемое время для сбора CSF - через 4 ч (± 1 ч) после дозирования на День 17 (или в день введения последней дозы Соединения А в цикле 1). Другие моменты времени для сбора CSF допускаются, если сбор CSF происходит на день PK и совпадает с одним из запланированных сборов образцов крови для PK через 1-8 ч после дозирования.

^g Парные биопсийные образцы опухолей являются обязательными для части В и высоко рекомендуемыми для части А. Биопсийные образцы для скрининга должны быть получены после удовлетворения всех критериев включения/исключения. Биопсия во время цикла 1 может быть получена на День 16 или 17 при условии введения 2 последовательных доз Соединения А.

^h Всех субъектов, которые прекращают лечение по причинам, отличным от прогрессирования заболевания, начинают новую противоопухолевую терапию или отзывают информированное согласие на участие во всем исследовании, наблюдают до прогрессирования или начала новых системных противоопухолевых терапий.

ⁱ Могут быть пропущены, если результаты являются нормальными по результатам самой последней биопсии костного мозга пациента. Кроме того, этот анализ может быть пропущен, если предыдущий анализ в пределах 90 дней перед Днем 1 цикла 1.

Все визиты исследования будут иметь окно ± 2 дня, если иное не указано ниже или в таблице событий (см. табл. 4). Все образцы крови для лабораторного анализа должны быть взяты перед дозированием, если не указано иное (например, образцы для PK). Процедуры исследования должны быть зарегистрированы в первичном документе и в электронных индивидуальных регистрационных картах (eCRF). В случае, если субъекты не проходят скрининг, минимальная информация будет зарегистрирована в eCRF в соответствии с инструкциями базы данных.

Лабораторные анализы для оценки безопасности могут быть выполнены на месте. Результаты скри-

нинговых лабораторных тестов должны подтвердить пригодность субъекта, но могут быть проведены повторно в период скрининга по необходимости. Подписание ICD проводится во время скринингового визита для всех пациентов квалифицированным исследовательским персоналом. Оно должно быть подписано и датировано пациентом и административным персоналом перед началом любых других процедур исследования и в заполненной форме храниться в первичных документах и eCRF. Все скрининговые тесты и процедуры должны быть завершены в течение 28 дней до введения первой дозы Соединения А в соответствии с графиком, показанным в табл. 4.

После скрининга и получения информированного согласия будет выполнено следующее:

критерии включения и исключения оценивают при скрининге и регистрируют в первичных документах и eCRF;

консультирование по вопросам контрацепции;

медицинскую, онкологическую и хирургическую историю, а также демографические данные (включая дату рождения, пол, расу и этническую принадлежность каждого пациента) собирают во время скрининга в соответствии с государственными нормативными правовыми актами. Онкологическая история включает подробную историю первичного диагноза и дату, терапии и ответы.

Сбор информации о предшествующих и сопутствующих лекарственных препаратах и процедурах.

Регистрация в системе интерактивной технологии связи (IRT).

Мониторинг нежелательных явлений.

Измерение роста и веса.

Оценка основных показателей состояния организма.

Физическое обследование (регистрация только в первичном документе) и общее состояние по шкале ECOG.

ЭКГ в 12 отведениях в трех повторах выполняют за ≥ 72 ч до первой дозы Соединения А, при этом результаты получают до дозирования для выполнения критериев включения в исследование.

Оценка фракции выброса левого желудочка (LVEF).

Тестирование на беременность для всех женщин, обладающих репродуктивным потенциалом.

Соответствующие методы контрацепции и возможные риски воздействия на плод будут обсуждаться с субъектами во время скрининга. Двойные методы контрацепции (один из которых должен быть барьерным методом) для женщин, обладающих репродуктивным потенциалом (например, пероральное, инъекционное или имплантируемое гормональное контрацептивное средство, внутриматочное устройство; барьерный контрацептив со спермицидным средством; или вазэктомированный партнер), и один метод контрацепции для мужчин (презерватив) необходимо применять субъектам с момента подписания ICD на протяжении всего исследования, и в течение 28 дней после последней дозы Соединения А. Это регистрируют в первичных документах:

клинические лабораторные тесты должны быть завершены в сроки, указанные в табл. 2; и оценки эффективности/опухолей.

Квалифицированных работников здравоохранения обучают требованиям, специфическим для консультирования субъектов по вопросу контрацептивных средств. После обучения эти медицинские работники будут консультировать субъектов до введения Соединения А, чтобы гарантировать, что субъект следует всем требованиям, включая использование противозачаточных средств, и что субъект осознает риски, связанные с приемом Соединения А.

Во время лечебного периода все сопутствующие лекарственные препараты и процедуры, принимаемые или проводимые после подписания субъектом ICD, на протяжении всего исследования и в течение 28 дней после последней дозы Соединения А, регистрируют в первичных документах и eCRF.

Нежелательные явления и серьезные нежелательные явления (SAE) регистрируют с момента подписания субъектом ICD до 28 дней после последней дозы Соединения А. Субъектов, испытывающих нежелательные явления, наблюдают с помощью соответствующих клинических оценок и лабораторных тестов, как определено исследователем. Регистрируют даты разрешения текущих нежелательных явлений. Нежелательные явления (AE) регистрируют на странице AE в eCRF и в первичных документах субъектов. Фотографии кожной сыпи получают, когда это возможно, анонимизируют и хранят надлежащим образом для будущего извлечения.

Вес субъектов регистрируют в первичном документе и eCRF во время визитов, указанных в табл. 4. Основные показатели состояния организма включают температуру тела, кровяное давление, частоту пульса и скорость дыхания, и регистрируют при скрининге и во время исследования в разные моменты времени для мониторинга безопасности, как описано в табл. 4. Записанные показания измерений фиксируются в первичном документе и eCRF. Полный физический осмотр и оценку общего состояния по шкале Восточной объединенной онкологической группы (ECOG PS, см. приложение D) выполняют во время визитов, указанных в табл. 4. Результаты обеих оценок регистрируют в первичном документе. Результаты для ECOG PS также регистрируют в eCRF. Результаты физического обследования классифицируются как нормальные или ненормальные. В случае ненормальных, описание отклонений от нормы и клиническую важность вносят в первичные документы. Клинически значимые изменения от исходного состояния регистрируют в разделе нежелательных явлений в eCRF. Стандартные электрокардиограммы в 12

отведениях (ECG) в трех повторах регистрируют во время визитов, указанных в табл. 4. ECG в 12 отведениях (12 отведениях при 25 мм/с регистрируемый ритм, скорость желудочка, интервал PR, комплекс QRS, интервал QT и интервал QTc) выполняют после нахождения субъекта в положении лежа на спине в течение не менее 5 мин. ECG в трех повторах (три записи с интервалом 2 ± 1 мин) выполняют во время:

скрининга;

цикла 1;

на День 1: перед дозированием (за 30 мин до дозирования) и через 2 ч (± 10 мин) после дозирования;

на День 17: перед дозированием (за 30 мин до дозирования) и через 2 ч (± 10 мин) после дозирования;

цикла 2 и последующих циклов:

на День 1: перед дозированием (за 30 мин до дозирования).

Одну ECG выполняют во время визита окончания лечения (ЕОТ). Для альтернативных режимов дозирования ECG во время цикла 1 на День 17 выполняют в последний день дозирования Соединения А в цикле 1. Исследователи принимают немедленные клинические решения на основе их интерпретации результатов ECG и вносят свою общую оценку ECG в eCRF, Клинически значимые изменения от исходного состояния регистрируют в разделе нежелательных явлений (AE) eCRF. Результаты ECG также загружают в центральную лабораторию ECG для окончательного анализа и интерпретации. Фракцию выброса левого желудочка (LVEF) (многоходная артериография [MUGA] или эхокардиограмма [ECHO]) измеряют при скрининге у всех субъектов. Требуются оценки в период последующего наблюдения, как указано в табл. 4. Оценки в период последующего наблюдения должны следовать такой же процедуре, которую используют во время скринингового обследования. Клинически значимое снижение определяется как абсолютное снижение на $\geq 20\%$ LVEF или падение ниже 45%. Женщина, обладающая репродуктивным потенциалом (FCBP), определяется как половозрелая женщина, которая:

не подвергалась гистерэктомии или двусторонней овариэктомии и

не находится в естественном периоде постменопаузы (амеорея после терапии рака не исключает репродуктивный потенциал) в течение по меньшей мере 24 последовательных месяцев (например, имела менструации в любое время в течение предшествующих 24 последовательных месяцев).

Исследователь классифицирует субъекта-женщину как FCBP в соответствии с этим определением. Тестирование на беременность не требуется для субъектов, не относящихся к FCBP-субъектам, но обоснование должно быть внесено в eCRF и первичный документ. Тестирование на беременность будет проводиться в локальной лаборатории.

Результаты тестов на беременность вносят в первичный документ и eCRF. Для женщин, обладающих репродуктивным потенциалом (FCBP), тестирование на беременность проводят во время визитов, указанных в табл. 4:

Анализ крови на беременность с чувствительностью по меньшей мере 25 мМЕ/мл должен быть выполнен при скрининге, и анализ крови или мочи на беременность (по усмотрению исследователя) в течение 72 ч до цикла 1 Дня -1 лечения в рамках исследования. Субъект может не получать Соединение А до тех пор, пока исследователь не удостоверится, что два скрининговых теста на беременность являются отрицательными.

Анализ крови или мочи на беременность (по усмотрению исследователя и минимальная чувствительность теста [25 мМЕ/мл]) необходимо проводить в течение 72 ч до Дня 1 каждого цикла и во время визита окончания лечения (ЕОТ). Субъект может не получать Соединение А до тех пор, пока исследователь не удостоверится, что тест на беременность является отрицательным.

Женщина, обладающая репродуктивным потенциалом (FCBP) или субъект-мужчина, чьим партнером является FCBP, должны избегать активностей, которые могут привести к зачатию, в течение 3 месяцев после последней дозы Соединения А.

Следующие лабораторные исследования будут выполнены во время скринингового визита и во время исследования в моменты времени, указанные в табл. 4. Все пробы должны быть взяты перед дозированием, если не указано иное. Лабораторные исследования регистрируют в первичном документе и eCRF и включают следующие:

Гематология: общий анализ крови (CBC), включая гемоглобин, гематокрит, количество лейкоцитов (WBC) с абсолютной дифференцировкой (включая количество бластов) и числом тромбоцитов.

Биохимический анализ сыворотки: альбумин, общий белок, бикарбонат или CO_2 , магний, фосфор, кальций, креатинин, мочеви́на/BUN, глюкоза (воздержание от пищи ≥ 4 ч), калий, натрий, хлорид, общий билирубин (фракционирование, если выходит за пределы нормального диапазона), щелочная фосфатаза, AST или сывороточная глутаминовая оксалоуксусная трансминаза (SGOT), ALT или сывороточная глутамат-пируват-трансминаза (SGPT), LDH и моче́вая кислота; исходный уровень гемоглобина A1c в случае, если гипергликемия является значительной на основе других ВЕТi в клинике.

Специальный химический анализ: амилаза, липаза, поднаборы Т-клеток (CD4+ и CD8+), тиреотропный гормон (TSH, в случае аномальной реакции в свободный Т4).

Коагуляция: PT, INR и PTT.

Анализ мочи: тест-полоска:

микроскопия в случае положительной (1+ или более) крови или белка;

сбор 24-часовой порции мочи для количественного определения клиренса креатинина и белка в случае 2+ или более белка.

Показатель клиренса креатинина, определяемый при скрининге, должен удовлетворять критериям включения в исследование.

Оценку ЕОТ (процедуры см. в табл. 4) проводят для субъектов, которые отказались от лечения по какой-либо причине, в возможно короткие сроки (≤ 28 дней) после принятия решения об окончательном прекращении лечения. Всех субъектов наблюдают в течение 28 дней после последней дозы Соединения А для регистрации АЕ и информации о сопутствующих лекарственных препаратах. Последующее наблюдение через 28 дней (± 2 дня) для оценки безопасности может быть проведено по телефону. Кроме того, регистрируют любые SAE, о которых сообщается исследователю в дальнейшем, предположительно связанные с соединением А. После визита последующего наблюдения для оценки безопасности всех субъектов будут наблюдать каждые последующие 3 месяца (± 2 недели) для оценки выживаемости, вплоть до 2 лет или до смерти, утраты контакта для последующего наблюдения или окончания исследования, в зависимости от того, что случится в первую очередь. Терапии новых заболеваний следуют проводить одновременно. Последующее наблюдение для оценки выживаемости может быть выполнено путем анализа записей (включая публичную информацию) и/или телефонного контакта с пациентом, семьей или лечащим врачом пациента.

Что касается оценки эффективности, оценки опухоли выполняют при скрининге и включают компьютерную томографию (СТ) грудной клетки, живота и таза и сканирование головного мозга (СТ или MRI) для субъектов с известным или предполагаемым вовлечением головного мозга. После скрининга рентгенологические оценки опухоли выполняют в конце (День 28 ± 7 дней) циклов 2, 4 и 6, а затем каждые 3 цикла, используя те же методы сканирования СТ/MRI, которые использовали при скрининге. Сканирование ЕОТ не требуется, если предыдущее сканирование было проведено в течение 28 дней.

Кроме того, для субъектов с NHL выполняют скрининг FDG PET или FDG PET/CT, если только опухоли не являются FDG-avid отрицательными. Следующее сканирование проводят для подтверждения CR.

Для пациентов с NHL с известным или предполагаемым вовлечением костного мозга, оценку костного мозга с помощью иммунофенотипирования методом проточной цитометрии выполняют при скрининге, после 2 циклов (конец цикла 2) и для подтверждения CR.

Всем субъектам, которые прекращают лечение по причинам, отличным от прогрессирования заболевания, начинают новую противоопухолевую терапию или отзывают информированное согласие на участие во всем исследовании, наблюдают в соответствии с указанным графиком оценки опухоли до прогрессирования или начала новых системных противоопухолевых терапий. Ответ опухоли во время каждой оценки после скрининга будет определяться исследователем на основе критериев оценки ответа в солидных опухолях (RECIST) версия 1.1, как описано в приложении В для солидных опухолей и пересмотренных критериев оценки результатов лечения злокачественных лимфом, как описано в Приложении С для NHL.

Оценки РК описаны ниже. Для оценки РК Соединения А в плазме образцы крови собирают у всех субъектов в моменты времени, указанные в табл. 5. Фактическое время сбора каждого образца регистрируют в первичных документах и в электронных индивидуальных регистрационных картах (eCRF). Образец с РК на исходном уровне может включать сбор на День 1 в части В.

Таблица 5

График взятия образцов крови для фармакокинетики для цикла 1

Время в часах относительно дозы Соединения А	Период сбора	Часть А, цикл 1 Дни 1 и 17 ^а	Часть В, цикл 1 День 17 ^а
0	В пределах 30 мин до	X	X
0.5	± 5 мин	X	X
1	± 5 мин	X	X
1.5	± 5 мин	X	X
2	± 5 мин	X	X
3	± 10 мин	X	X
4	± 10 мин	X	X
6	± 10 мин	X	X
8	± 10 мин	X	X
24	± 1 ч	X (перед дозированием на День 2)	X (День 18)

^аДля альтернативных режимов дозирования сбор образцов крови на День 17 для РК будет выполнен в последний день дозирования в цикле 1 в указанные моменты времени.

Поисковый анализ концентраций Соединения А в CSF может быть выполнен для субъектов, которые имеют первичное или метастатическое поражение CNS с установленным шунтом или резервуаром и которые дают согласие на необязательное взятие образца. Взятия образца CSF рекомендуется проводить перед дозированием, затем через 4 ч (± 1 ч) после дозирования на День 17 (или в последний день дозирования Соединения А в цикле 1, если применяются альтернативные режимы дозирования). Другие моменты времени для сбора CSF допускаются, если сбор CSF происходит на день РК и совпадает с одним из запланированных сборов образцов крови для РК через 1-8 ч после дозирования (см. табл. 4). Спонсор может проводить дополнительные анализы на образцах РК, чтобы наблюдать за безопасностью лечения, проводимого в рамках исследования, или лучше понять прогрессирование заболевания или реакцию заболевания на лечение. Сбор, манипуляции и обработку образцов осуществляют в соответствии со стандартными инструкциями надлежащей лабораторной практики.

Что касается биомаркеров, фармакодинамики и фармакогеномики, архивную опухоль в виде фиксированных в формалине, залитых парафином (FFPE) блоков или заключенных в среду срезов (рекомендуется 15 препаратов), извлекают после того, как подходящих субъектов набирают в систему IRT, если только один случай исключения не предоставляется спонсором. Для образцов крови для фармакогеномики образец цельной крови собирают после того, как подходящих субъектов включают в систему IRT для оценки потенциальных фармакогеноматических маркеров безопасности, активности или воздействия Соединения А. См. Инструкции по проведению лабораторных работ и Приложение G для инструкций по сбору, манипуляции и обработке образцов.

Схемы для фармакодинамических и предиктивных биомаркеров представлены ниже.

Цельная кровь для исследований PD биомаркеров:

Цикл 1 День 1: перед дозированием (≤ 3 ч) и через 2, 4, 8 (каждые ± 15 мин) и 24 ч (± 1 ч) после введения дозы Соединения А;

Опухолевая ткань для исследований PD биомаркеров:

Скрининг: с Дня -7 до Дня -1 (после выполнения всех критериев включения и исключения);

Цикл 1 Дни 16 или 17: через 2 ч (± 1 ч) после введения дозы Соединения А;

Необязательно в любое другое время до визита EOT.

Спонсор может проводить дополнительные анализы на PD образцах, чтобы наблюдать за безопасностью лечения, проводимого в рамках исследования, или лучше понять прогрессирование заболевания или реакцию заболевания на проводимое лечение.

Биопсии опухолей являются обязательными в части В и необязательными (но желательными) в части А. Биопсийные образцы берут путем иссечения опухоли (предпочтительно) или путем пункционной биопсии (рекомендуется четыре пассажа) при скрининге и в цикле 1 на День 16 или 17. Аспирация тонкой иглой является недостаточной в качестве источника биопсийного материала опухоли. Образцы могут быть представлены в виде свежемороженых, залитых в парафин образцов (FFPE). Оптимально образцы опухолевой ткани получают из одного и того же участка опухоли. Если прием Соединения А был прерван до завершения дозирования во время цикла 1 на День 16 или 17, рекомендуется отложить биопсию опухоли до тех пор, пока не будут введены как минимум две последовательные дозы. Кроме того, необязательная биопсия опухоли может быть проведена как в части А, так и в части В во время последующих циклов лечения или после прекращения лечения (в любое время в течение 28-дневного периода последующего наблюдения) для выяснения эффектов длительного лечения или механизмов устойчивости соответственно. См. Инструкции по проведению лабораторных работ и Приложение G для сбора, манипуляций и обработки образцов.

Исследуемое лекарственное средство(средства) (Investigational Product) представляет собой Соединение А, имеющее молекулярную массу, выраженную в г/моль. Лекарственное средство для клинического применения, Соединение А, представлено в виде состава. Лекарственное средство для клинического применения, Соединение А, следует хранить в соответствии с условиями, указанными на упаковочной наклейке.

Соединение А вводят раз в сутки утром натощак (т.е. ≥ 1 ч до завтрака) по меньшей мере с 240 мл воды после воздержания от пищи ночью в течение ≥ 6 ч в обеих частях А и В. Субъекты должны воздерживаться от приема пищи или других лекарственных препаратов в течение ≥ 1 ч после каждой дозы. Субъекты будут принимать Соединение А начиная с Дня 1 в течение 3 последовательных дней с последующими четырьмя последовательными днями лекарственных каникул, каждую неделю (схема дозирования 3/7 дней) в каждом 4-недельном цикле. Альтернативные режимы дозирования могут быть реализованы на основе анализа клинической безопасности и лабораторных данных SRC.

В дни исследования, когда требуется проведение оценок РК, Соединение А вводят в клинику после завершения любых оценок перед дозированием. Во все другие дни исследования субъекты будут самостоятельно вводить назначенные им дозы дома и записывать время дозирования в дневнике.

Лечение в рамках исследования может быть прекращено, если имеется свидетельство клинически значимого прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности или решение субъекта/врача об исключении из исследования. Субъекты могут продолжать получать исследуемое лекарственное средство.

во, помимо прогрессирования заболевания, по усмотрению исследователя по итогам консультации с медицинским наблюдателем спонсора.

Для принятия решений, касающихся эскалации дозы, по меньшей мере трех субъектов набирают в последовательные когорты. Первую когорту подвергают лечению начальной дозой, равной 15 мг. Субъекты должны завершить минимум один цикл лечения с минимальной оценкой безопасности и действием лекарственного средства или иметь DLT в течение первого цикла лечения, которая считается пригодной для принятия решений по эскалации дозы. Решения по эскалации дозы будут приниматься, когда когорта субъектов отвечает этим критериям. Решения по эскалации дозы будут приниматься SRC. Решения будут основаны на обобщении всех соответствующих данных, полученных от всех уровней доз, оцененных в текущем исследовании, включая информацию по безопасности, значения DLT, все данные по связанной с лечением токсичности степени ≥ 2 согласно CTCAE во время цикла 1, и PK, данные от поддающихся оценке субъектов. PK данные от субъектов будут доступны на постоянной основе в течение всего исследования, и дозирование будет адаптировано соответствующим образом. Рекомендуемая доза для следующей когорты субъектов будет определяться BLRM с принципом EWOC.

Адаптивная байесовская методология обеспечивает оценку уровней доз Соединения А, которые не превышают MTD, и включает всю информацию по DLT при всех уровнях доз для этой оценки. Как правило, следующая рекомендуемая доза будет иметь самую высокую вероятность того, что уровень DLT будет падать в целевом интервале (16-33%) и всегда будет удовлетворять принципу EWOC. Во всех случаях рекомендуемая доза для следующей когорты не будет превышать 100% увеличение от предыдущей дозы. Меньшие увеличения дозы могут быть рекомендованы SRC после рассмотрения всех доступных клинических данных.

Процедура набора субъектов для исследования в каждую когорту, получающую определенную дозу, и условия для принятия решений, касающихся эскалации/деэскалации дозы, представляют собой следующие:

1. Для ограничения числа субъектов, подвергаемых лечению при субтерапевтической дозе, данное исследование начинают с оценки Соединения А в когортах, состоящих по меньшей мере из 3 поддающихся оценке субъектов, при каждом уровне дозы. Первоначально шаг повышения дозы между когортами будет составлять 100%. Когда два субъекта (которые могут находиться в разных когортах) испытывают связанную с лечением токсичность степени 2 согласно NCI CTCAE, или один субъект испытывает DLT или токсичность степени ≥ 3 , размер когорт может быть увеличен по меньшей мере до 6 поддающихся оценке субъектов для текущих и последующих когорт. Увеличение дозы Соединения А будет составлять $\leq 50\%$ для каждой последующей когорты эскалации дозы.

2. После завершения цикла 1 для всех поддающихся оценке субъектов в когорте применяют двухпараметрическую модель BLRM с использованием принципа EWOC для выработки рекомендаций для SRC относительно следующего уровня дозы со следующими исключениями:

Если первые два субъекта в когорте испытывают DLT, в эту когорту не будут включены дополнительные субъекты до тех пор, пока байесовская модель не будет обновлена с использованием этой новой информации. Аналогично, модель будет оценена повторно, если два субъекта в когорте испытывают DLT перед набором любого дополнительного субъекта.

Если принято решение об эскалации дозы до более высокого уровня, но один или более дополнительных субъектов, подвергаемых лечению при дозах предшествующего уровня (см. пункт 4 ниже), испытывают DLT в цикле 1, модель BLRM будет обновлена перед набором любого дополнительного субъекта в текущий (более высокий) уровень дозы.

3. После каждой когорты SRC будет получать и анализировать результаты оценки BLRM и доступную информацию по безопасности (т.е. данные по DLT и не-DLT), PK, PD и эффективности. Окончательные решения по эскалации дозы будут приниматься SRC.

После повторения вышеуказанных стадий доза Соединения А может быть объявлена MTD и/или RP2D после выполнения следующих условий:

по меньшей мере шесть поддающихся оценке субъектов было подвергнуто лечению при этой дозе; апостериорная вероятность целевой токсичности при указанной дозе превышает 60% и является самой высокой среди повышающихся доз или как минимум 21 субъект был подвергнут лечению в исследовании; и

доза рекомендуется в соответствии с BLRM, и SRC одобряет ее.

По усмотрению SRC, для лучшего понимания безопасности, переносимости и PK Соединения А, дополнительные когорты субъектов могут быть набраны при предшествующих уровнях дозы или до промежуточных уровней дозы перед или одновременно с дальнейшей эскалацией дозы.

Предварительные уровни дозы, которые должны быть назначены отдельным когортам субъектов, описаны в настоящем документе. Однако решения о дозах, принятые во время эскалации, не ограничиваются этими дозами. На основании рекомендации BLRM относительно самой высокой дозы, которая не может быть превышена ни в один момент принятия решения во время эскалации, и максимального увеличения дозы, допускаемого протоколом, промежуточные дозы можно вводить последующим новым

когортам субъектов. Решение об оценке дополнительных субъектов в когорте, получающей определенную дозу, когорте, получающей более высокую дозу, когортах, получающих промежуточную дозу, меньший шаг повышения дозы, альтернативные режимы дозирования или объявление MTD, также будет определяться SRC на основе анализа клинических и лабораторных данных по безопасности.

Всех субъектов, получающих по меньшей мере одну дозу Соединения А, будут оценивать на безопасность. После введения первой дозы в любой когорте во время эскалации дозы субъектов в каждой когорте наблюдают в течение 28 дней (цикл 1, окно DLT) перед тем как перейти к когорте, получающей следующую дозу. Не более одного субъекта в день может быть набрано в данную когорту эскалации дозы. Субъект, оцениваемый на DLT, определяется как пациент, который:

получил по меньшей мере 10 из 12 доз (или $\geq 80\%$ от общей планируемой интенсивности доз) Соединения А во время цикла 1, не испытывая DLT; или
испытывал DLT после получения по меньшей мере одной дозы Соединения А.

Субъектов, не поддающихся оценке на DLT, заменяют. Дополнительные субъекты в любой когорте, получающей определенную дозу, могут быть набраны по решению SRC. Эскалация дозы у одного и того же субъекта не допускается во время периода оценки DLT. MTD определяется как самая высокая доза, которая приводит к $\leq 33\%$ субъектов, испытывающих DLT во время первого цикла лечения. Оценка MTD описана в настоящем документе. Когорта с переменной дозой (например, менее частое дозирование) может быть оценена для точного определения MTD по усмотрению SRC.

Во время эскалации дозы периодом для оценки DLT является цикл 1 (28 дней). Общие терминологические критерии нежелательных явлений Национального института онкологии США (National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events, CTCAE), версия 4.03, используют в качестве руководства для оценки нежелательных явлений по степени тяжести. DLT определяется как любая из следующих токсических реакций, возникающих в пределах оценки DLT, если только это событие не определяется ясно как не связанное с соединением А.

Ниже описаны дозолIMITИРУЮЩИЕ ТОКСИЧНОСТИ:

любая негематологическая токсичность 4 степени любой продолжительности;

любая негематологическая токсичность степени ≥ 3 , за исключением диареи, тошноты или рвоты 3 степени продолжительностью ≤ 3 дней (с оптимальным лечением);

сыпи угревидного, пустулезного или макулопапулезного типа 3 степени, которая разрешается до степени ≤ 2 в течение 7 дней после прекращения приема исследуемого лекарственного средства и повторно не возникает на том же уровне при возобновлении приема исследуемого лекарственного средства при такой же дозе (с оптимальным лечением);

патологической усталости 3 степени, которая разрешается до степени ≤ 2 в течение 7 дней после прекращения приема лекарственного средства и повторно не возникает на том же уровне при возобновлении приема исследуемого лекарственного средства при такой же дозе (с оптимальным лечением);

следующие гематологические токсичности: фебрильная нейтропения;

нейтропения 4 степени, продолжающаяся >7 дней;

тромбоцитопения 4 степени, продолжающаяся >7 дней, тромбоцитопения ≥ 3 степени с клинически значимым кровотечением;

любое нежелательное явление (АЕ), если только четко не определено, что оно не связано с лекарственным средством, требующее снижения уровня дозы во время цикла 1; и

возможно, продолжительная гипергликемия 3 степени (X_2 по меньшей мере через 24 ч) или симптоматическое воздержание от пищи 3 степени или гипергликемия более высокой степени.

Отдельные изменения лабораторных показателей без проявления связанных клинических признаков или симптомов (например, гипомагниемия, гипермагниемия, гипоальбуминемия, гипофосфатемия, количество лимфоцитов, повышенное или пониженное) не могут быть включены в данное определение. Эти обнаружения будут обсуждаться и анализироваться SRC.

Критерии для эскалации дозы в следующей когорте субъектов оценивают следующим образом. Когорты состоят по меньшей мере из трех поддающихся оценке субъектов. SRC будет принимать все окончательные решения по эскалации дозы. Критерии принятия решения по эскалации дозы включают:

если не более 0 из 3 или 1 из 6 поддающихся оценке субъектов испытывают DLT в пределах окна измерения DLT в когорте, получающей определенную дозу, может происходить эскалация дозы до более высокой дозы в следующей когорте. Дополнительные пациенты будут набраны для расширения когорты до шести поддающихся оценке субъектов, если имеется менее шести поддающихся оценке субъектов во время наблюдения DLT;

если два или более, вплоть до шести поддающихся оценке субъектов испытывают DLT в пределах окна измерения DLT в когорте субъектов, получающих определенную дозу, любой дополнительный набор будет прекращен, и эта доза будет определена как NTD;

SRC будет определять, будут ли набраны дополнительные субъекты в когорты, получающие более низкую дозу, чтобы имелось 6 поддающихся оценке субъектов для определения MTD, или будет ли рассматриваться когорта, получающая промежуточную дозу, или альтернативный режим у вплоть до шести

новых набранных субъектов;

число когорт зависит от частоты возникновения DLT. Субъект может испытывать более чем одну DLT. Решения по эскалации дозы основаны на количестве субъектов, испытывающих явления DLT.

В настоящем документе описаны правила прекращения эскалации дозы во время части А. Снижения дозы разрешаются в любом цикле, включая цикл 1. Снижения дозы, которые происходят в цикле 1 во время эскалации дозы, будут определяться DLT, как указано, но субъектам разрешается продолжать прием Соединения А при сниженной дозе. В случае, когда показано снижение дозы, будет выбрана когорта, получающая следующую более низкую дозу, или режим менее частого дозирования. Разрешаются два снижения дозы. После снижения доза может быть увеличена, когда токсичность достигает степени ≤ 1 . Если токсичность повторно возникает при более высокой дозе, дозу снижают второй раз, но в этом случае повторное увеличение не разрешается. Если какой-либо субъект продолжает испытывать неприемлемую токсичность после двух снижений дозы (одно для начальной дозы), прием Соединения А прекращают навсегда. Эскалация дозы у одного и того же субъекта не разрешается во время периода оценки DLT.

Кроме того, что касается снижения дозы, любое нежелательное явление, отвечающее определению DLT, требует прерывания дозирования. Дозирования должны быть отложены, если какие-либо токсические явления степени ≥ 2 не разрешаются до степени ≤ 1 к моменту введения следующей дозы. Токсичность степени ≥ 3 или хроническая токсичность степени 2 может потребовать снижения дозы Соединения А. Такие случаи должны обсуждаться со спонсором (медицинским наблюдателем и врачом-исследователем) перед внесением изменений в дозировку.

Кроме того, что касается критериев увеличения дозы, в части А (фаза эскалации), эскалация дозы у одного и того же пациента выше доз, первоначально назначенных пациенту, не разрешается в цикле 1. Те, кто продолжает принимать Соединение А после цикла 2, могут после одобрения SRC принимать увеличенную дозу при условии, что альтернативная доза, как было доказано, хорошо переносилась по меньшей мере одной когортой субъектов в этом исследовании (т.е. риск передозировки составляет менее 25% согласно оценке BLRM). В случае эскалации дозы у одного и того же субъекта и с (необязательно) согласия субъекта кровь будет взята для оценок РК согласно графику РК в цикле 1 на День 1 для части А. Взятие образцов для анализа фармакокинетики (ПК) осуществляют после введения по меньшей мере 2 доз Соединения А при более высокой дозе для оценки фармакокинетики (ПК) Соединения А у одного и того же субъекта. В части В (фаза расширения) эскалация дозы выше MTD не допускается.

Лечение может быть прервано на срок до четырех недель до тех пор, пока токсичность (исключая алопецию) не достигнет степени ≥ 1 или исходных уровней. Лечение может быть возобновлено при такой же или сниженной дозе по усмотрению исследователя, или как описано в настоящем документе. Любые такие прерывания лечения должны обсуждаться с медицинским наблюдателем, назначенным спонсором.

В период оценки DLT фазы эскалации дозы прерывание лечения с пропуском >2 доз Соединения А по причинам, отличным от DLT, сделает субъекта не поддающимся оценке на DLT, и вызовет необходимость замены этого субъекта в когорте, получающей определенную дозу. Любые такие прерывания лечения должны обсуждаться с медицинским наблюдателем, назначенным спонсором.

Что касается управления выбранными нежелательными явлениями, такими как нейтропения, тромбоцитопения и анемия, гематопозитические факторы роста или другие гематологические средства, такие как эритропоэтин, дарбепоэтин, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), переливания эритроцитов (RBC) или тромбоцитов допускаются в исследовании с терапевтической целью. Терапевтическое применение G-CSF допускается в любое время для субъектов, испытывающих нейтропению 3/4 степени или фебрильную нейтропению любой степени. Профилактическое применение гранулоцитарных (или гранулоцитарно-макрофагальных) факторов роста не допускается во время цикла 1. Субъектов с нейтропенией степени 3 или 4 необходимо регулярно наблюдать с помощью лабораторных анализов до разрешения до степени ≤ 1 . Должна быть рассмотрена противомикробная, противогрибковая и противовирусная профилактика. Что касается боли, то боль в области опухоли или боль, вызванная лечением, можно контролировать с помощью опиоидных и родственных опиоидным анальгетиков, таких как кодеин, меперидин, пропоксифен или морфин, вводимых по усмотрению врача и как продиктовано медицинской необходимостью. Риск кровотечения, особенно при возникновении тромбоцитопении, следует учитывать до применения нестероидных противовоспалительных лекарственных средств (NSAID) и аспирина.

Что касается эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта, по усмотрению исследователя рекомендуются покрывающие слизистую оболочку агенты, защищающие слизистую оболочку пищевода/желудка, а также мониторинг субъектов в отношении GI кровотечения. Субъектам рекомендуется сообщать обо всех эпизодах дискомфорта или боли в GI, потери аппетита или крови в стуле. Рекомендуется, чтобы лечение субъектов, страдающих диареей, происходило в соответствии с руководством, представленным на фиг. 7. Прием противодиарейных лекарственных средств, таких как лоперамид, следует начинать с момента появления диареи 1-2 степени. Противодиарейные лекарственные средства можно назначать для профилактики и лечения диареи. Обезвоживание и нарушения водно-электролитного ба-

ланса должны быть быстро скорректированы. Должны быть рассмотрены общие меры для прекращения диареи, такие как диета с низким содержанием клетчатки и увеличение потребления жидкости.

Изменения уровня глюкозы в крови не наблюдались в доклинических токсикологических исследованиях с применением Соединения А. Однако в предварительных данных клинического исследования нового экспериментального препарата ВЕТi, ОТХ015, сообщается, что 7 из 37 пациентов с нелейкозными формами гематологических злокачественных новообразований имели гипергликемию 1-2 степени и 1 пациент испытывал гипергликемию 3 степени. Thieblemont, 2014. Неизвестно, может ли наблюдаться гипергликемия в случае применения Соединения А, и общие рекомендации по управлению возможной гипергликемией показаны в приложении Е.

Передозировка, как определено для этого протокола, относится только к дозированию Соединения А. В пересчете на дозу, передозировка определяется как следующее количество, превышающее указанную в протоколе дозу Соединения А, назначенную данному пациенту, независимо от любых связанных нежелательных явлений или последствий:

РО любое количество сверх указанной в протоколе дозы.

На основе режима или частоты введения передозировка определяется как что-либо более частое, чем требуемый протоколом режим или частота. Полные данные, касающиеся введения лекарственного средства, включая любую передозировку, независимо от того, была ли передозировка случайной или преднамеренной, должны быть отражены в индивидуальной регистрационной карте.

Что касается способа распределения в группы лечения, субъекты, подходящие для участия в исследовании, будут набраны последовательно в часть А (эскалация дозы). Набор в часть В (расширение когорты) будет стратифицировано по группе заболеваний и режиму дозирования, по необходимости. Система Интерактивной технологии связи (IRT) будет использована, чтобы отслеживать распределение субъектов по уровням доз в части А и группам опухолей в части В.

Этикетка(и) для Соединения А включает имя спонсора, адрес и номер телефона, номер протокола, Соединение А, лекарственную форму и дозировку (по необходимости), количество Соединения А на контейнер, номер партии, срок годности (по необходимости), идентификационный номер лекарственного средства/номер набора, инструкции по дозированию, условия хранения и требуемые меры предосторожности и/или заявления регуляторного органа, по необходимости. Дополнительная информация может быть указана на этикетке по необходимости в соответствии с государственными нормативными правовыми актами.

Исследователь и соответствующий персонал исследовательского центра проходят подготовку, касающуюся процедур документального оформления приемки Соединения А, а также процедур учета, проверки Соединения А, утилизации Соединения А и документального оформления этих процессов, например, рассмотрение исследователем и соответствующим персоналом процесса возврата, утилизации или уничтожения Соединения А, включая ответственности за центр или уполномоченного исследователем лица.

Только фармацевт или уполномоченное исследователем лицо распределяет лекарственную форму Соединения А. Запись о количестве капсул/таблеток Соединения А, выданных каждому субъекту и полученных каждым субъектом, должна сохраняться. Фармацевт или уполномоченное исследователем лицо будет документально фиксировать дозы, распределенные/введенные, в соответствующей документации исследования. Субъекты используют дневники для записи ежедневного самостоятельного введения Соединения А в домашних условиях. Лицо, заполняющее дневник, подписывает/ставит инициалы и датирует дневник в соответствии с надлежащей практикой документирования. Их анализирует исследовательский персонал при каждом визите пациента. По необходимости записи уточняются, чтобы соответствующая информация могла быть внесена в eCRF. Сотрудники исследовательского центра осуществляют контроль за введением Соединения А и вносят эту информацию в первичную документацию субъекта и соответствующую электронную индивидуальную регистрационную карту (eCRF).

Все лекарственные средства (исключая предшествующую противоопухолевую терапию для оцениваемой опухоли), которые начинают принимать после подписания субъектом ICD, и всю сопутствующую терапию во время исследования до 28 дней после прекращения лечения, а также дозу, частоту дозирования и основания для применения терапии будут документально фиксировать в первичных документах и на странице сопутствующих лекарственных препаратов в eCRF. Всю предшествующую терапию рака для оцениваемой опухоли, включая химиотерапию, биологическую, иммунологическую, лучевую терапию и хирургическую операцию, будут документально фиксировать на странице предшествующего лечения рака в eCRF. Исследователь инструктирует субъектов в отношении уведомления исследовательского персонала о любых новых лекарственных препаратах, принимаемых после подписания ICD. Все лекарственные препараты и важные нелекарственные терапии (лекарственные травы, физиотерапия и т.д.) и любые изменения в дозировке текущих лекарственных препаратов будут документально зафиксированы в eCRF. Подвержение мерам предосторожности, применение любых сопутствующих лекарственных средств/терапий, которые считаются необходимыми для лечения пациента, должно быть использовано. Повторные оценки РК могут быть выполнены в случае внесения изменений в сопутствующие лекарственные препараты, которые могут влиять на абсорбцию или метаболизм. Далее следуют разрешен-

ные сопутствующие лекарственные средства и процедуры:

Субъекты с диареей 1 степени должны незамедлительно начать лечение дифенилоксилатом/атропином (ломотил) или лоперамидом (имодиум) или альтернативным безрецептурным средством для лечения диареи. Премедикация антидиарейным препаратом перед применением последующих доз Соединения А может быть целесообразной и должна обсуждаться с медицинским наблюдателем.

Прием противорвотных средств будет отложен до тех пор, пока субъекты не будут испытывать тошноту или рвоту 1 степени согласно классификации СТСАЕ. Затем субъекты могут получать профилактически противорвотные средства по усмотрению исследователя.

Субъекты могут получать профилактически средства для защиты слизистой оболочки по усмотрению исследователя.

Терапевтическое применение гранулоцитарных факторов роста допускается в любое время для субъектов, испытывающих фебрильную нейтропению или нейтропению 3/4 степени. Регулярная профилактика с помощью гранулоцитарного колониестимулирующего фактора или гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора допускается по усмотрению исследователя, начиная с цикла 2 и далее.

Субъекты, получающие стабильные дозы рекомбинантного эритропоэтина или дарбепоэтина-альфа в течение по меньшей мере 4 недель до начала приема Соединения А, могут продолжать прием в тех же дозах на протяжении всего исследования. Субъекты могут начать лечение de novo эритропоэтин-стимулирующими агентами (ESA) в цикле 2 в случае гипопролиферативных анемий, возникших на фоне предшествующей химиотерапии, при условии отсутствия клинического подозрения на параллельно существующую причину анемии (например, индуцированную Соединением А).

Разрешается парентеральная вакцинация против гриппа.

Стандартная профилактика инфекционных заболеваний не требуется. Однако профилактика с применением антибиотиков, противовирусных средств, антипневмоцистных средств, противогрибковых средств или другая профилактика может быть проведена во время исследования по усмотрению исследователя.

Лечение бисфосфонатами (например, памидронат, золендронат) или другими агентами (например, деносумаб) разрешается для предотвращения или замедления прогрессирования метастазов в костях. Рекомендуются поддерживать стабильный режим дозирования на протяжении всего исследования.

Фокальная палиативная лучевая терапия для лечения связанных с раком симптомов (например, локализованной боли в костях) разрешается во время лечения в рамках исследования по усмотрению исследователя.

Субъекты могут получать физиологические замещающие дозы глюкокортикоидов (до эквивалента 10 мг суточного преднизона) в качестве поддерживающей терапии в случае недостаточности надпочечников.

Поддерживающие гормональные терапии разрешаются у пациентов с историей рака молочной железы или предстательной железы.

Другие исследовательские терапии не должны применяться, пока субъект принимает участие в исследовании. Противоопухолевая терапия (химиотерапия, биологическая или исследовательская терапия и хирургическая операция), отличная от методов лечения, проводимых в рамках исследования, не должна проводиться у субъектов, пока они принимают участие в исследовании. Если такое лечение требуется, субъект должен прекратить участие в исследовании. Лечение путем длительного терапевтического дозирования антикоагулянтов (например, варфарина, низкомолекулярного гепарина, ингибиторов фактора Ха) не допускается. Краткосрочное профилактическое введение антикоагулянтов может быть рассмотрено у субъектов в случае, если это показано с медицинской точки зрения (например, госпитализированные субъекты, после операции).

Что касается статистических соображений, первичными целями данного исследования являются определение безопасности, переносимости и MTD Соединения А при пероральном введении в режиме 3/7 дней для взрослых субъектов с распространенными солидными опухолями и рецидивной/рефрактерной NHL, и для определения его PK характеристик. Вторичной целью является проведение предварительной оценки противоопухолевой активности Соединения А. Анализы сводных данных/статистические анализы выполняются по части исследования (часть А или В), уровню дозы (часть А) и группе опухолей (часть В), по необходимости.

Определения исследуемых популяций включают следующее:

включенная в исследование популяция - все субъекты, которым присвоен номер при включении и которые отвечают критериям включения/исключения;

подвергнутая лечению популяция - все субъекты, которые включены в исследование и получают по меньшей мере одну дозу Соединения А;

популяция, поддающаяся оценке на эффективность (Efficacy Evaluable (EE) Population) - все субъекты, которые включены в исследование, отвечают критериям включения, завершают по меньшей мере один цикл Соединения А (прием по меньшей мере 80% от назначенных доз) и имеют оценку опухоли на исходном уровне и по меньшей мере одну достоверную оценку после исходного уровня;

популяция, поддающаяся оценке на фармакокинетику (Pharmacokinetic (PK) Evaluable Population) - все субъекты, которые включены в исследование, получают по меньшей мере одну дозу Соединения А и имеют по меньшей мере одну измеряемую концентрацию Соединения А;

популяция, поддающаяся оценке на биомаркеры (Biomarker Evaluable (BE) Population) - все субъекты, которые включены в исследование, получают по меньшей мере одну дозу исследуемого лекарственного средства и имеют оценку по меньшей мере одного биомаркера, за исключением оценок, признанных непригодными.

Во время части А исследования применяли адаптивную модель байесовской логистической регрессии (BLR) (с двумя параметрами), использующую эскалацию дозы с контролем передозировки (EWOC). Для этого исследования не проводилось формальных расчетов статистической мощности исследования для определения объема выборки. Фактическое количество субъектов будет зависеть от количества тестируемых уровней доз/когорт. Предполагаемое количество субъектов составляет приблизительно 40 человек. После определения MTD или RPTD из части А в часть В будет набрано приблизительно 14-20 дополнительных субъектов на каждый предварительно определенный тип опухоли.

Для части В объемы выборки определяют не на основе расчета мощности исследования, а исходя из клинических, эмпирических и практических соображений, обычно используемых для поисковых исследований такого рода. Набор в опухоль-специфическую когорту будет остановлен по причине бесперспективности, если отсутствуют объективные ответы или имеется менее трех субъектов со стабилизацией заболевания, длящейся в течение по меньшей мере 4 месяцев (т.е. два или более контрольных момента времени оценки опухоли после исходного уровня), среди первых 14 субъектов в пределах типа опухоли. Если по меньшей мере один объективный ответ или три субъекта со стабилизацией заболевания, длящейся в течение ≥ 4 месяцев, наблюдаются среди первых набранных 14 субъектов, поддающихся оценке на эффективность, до шести дополнительных субъектов будет набрано с получением в общей сложности 20 поддающихся оценке субъектов в когорте. Если частота ответа составляет 20%, вероятность того, что у первых 14 субъектов не будет наблюдаться ответ, будет составлять 4,4%. Если частота стабилизации заболевания, длящейся в течение по меньшей мере 4 месяцев, составляет 40%, вероятность того, что будет наблюдаться менее трех субъектов со стабилизацией заболевания, длящейся в течение по меньшей мере 4 месяцев, составит 4%. Если имеется больше SD, чем объективных ответов, может быть оценена частота контроля заболевания, а не ORR.

В части А исходные характеристики субъектов будут обобщены по когорте субъектов, получающих определенную дозу, для включенной в исследование популяции. В части В исходные характеристики субъектов будут обобщены по типу опухоли. Возраст, вес, рост и другие непрерывные демографические и исходные переменные будут обобщены с использованием описательной статистики. Общее состояние, пол, раса и другие категориальные переменные будут обобщены с помощью таблиц частот. Данные анамнеза будут обобщены с использованием таблиц частот по классу системного органа и предпочтительному термину.

Распределение субъектов (распределение анализируемой популяции, субъектов, принимающих участие в исследовании, прервавших участие в исследовании с указанием основной причины) в ходе лечения и исследования будет обобщено с использованием частоты и процента. Обеспечивается обобщенная информация о субъектах, включенных в исследование, по исследовательскому центру. Нарушения протокола обобщают с использованием таблиц частот. Также обеспечивается вспомогательный список подходящих субъектов.

Анализ эффективности основан на популяции, подвергнутой лечению, и включает обобщенные данные о частоте контроля заболевания (DCR), частоте объективного ответа (ORR), длительности ответа или стабилизации заболевания, выживаемости без прогрессирования заболевания (PFS) и OS по когорте, получающей определенную дозу, и режиму дозирования (часть А), или по типу опухоли и режиму дозирования (часть В). Ответ опухоли (CR, PR, SD, PD или не поддающийся оценке) будет оцениваться исследователями в соответствии с Критериями оценки ответа в солидных опухолях (RECIST) версия 1.1 и критериями Международной рабочей группы (IWG). DCR определяется как процент субъектов, у которых лучшим ответом является полный ответ (CR), частичный ответ (PR) или стабилизация заболевания (SD). ORR определяется как процент субъектов, у которых лучшим ответом является CR или PR. В случаях, когда самым лучшим ответом является SD, он должен быть документально подтвержден рентгенографически по меньшей мере один раз после включения в исследование минимум через 7 недель (т.е. совпадает с первой оценкой ответа после исходного уровня минус окно для проведения оценки). Если минимальное время для достижения наилучшего ответа, которым является стабилизация заболевания (SD), не удовлетворяется, наилучший ответ субъекта будет зависеть от результатов последующих оценок. Например, субъект, который демонстрирует SD во время первой оценки (когда первая оценка не удовлетворяет критерию минимального времени достижения SD) и PD во время второй оценки, будет классифицироваться как имеющий лучший ответ PD. Субъект, с которым утерян контакт для наблюдения после первой оценки SD, будет считаться не поддающимся оценке, если критерий минимального времени достижения SD не был удовлетворен.

Двусторонние 95%-ные доверительные интервалы по методу Клоппера-Пирсона используют для

оценок ORR и DCR. Аналогичные анализы будут выполнены для включения тех субъектов, которые имеют подтвержденные ответы, а также для популяции, поддающейся оценке на эффективность. Для субъектов с лучшим ответом, представляющим собой CR или PR, продолжительность ответа измеряется с момента, когда сначала удовлетворяются критерии для CR/PR (в зависимости от того, что зарегистрировано первым), до первой даты, когда объективно зафиксировано прогрессирование заболевания. Для субъектов с лучшим ответом, представляющим собой SD, продолжительность SD измеряется от даты введения первой дозы до тех пор, пока не будут удовлетворены критерии прогрессирования заболевания. Если прогрессирование документально не подтверждается до прекращения приема Соединения А, продолжительность общего ответа и продолжительность SD будут подвергнуты цензуре на дату последней адекватной оценки опухоли.

Продолжительность ответа/SD на основе оценок исследователя будет обобщена с использованием описательной статистики (среднее значение, стандартное отклонение, медиана, минимум и максимум) для популяции, подвергнутой лечению. За исключением медиан, которые будут рассчитаны на основе как наблюдаемых, так и цензурированных показателей с использованием метода Каплана-Мейера, все остальные статистические данные (среднее значение, стандартное отклонение, минимум и максимум) будут рассчитаны только на основе наблюдаемых значений.

Выживаемость без прогрессирования заболевания (PFS) определяется как время, прошедшее с момента приема первой дозы Соединения А до первого проявления прогрессирования заболевания или смерти по любой причине. Субъекты, у которых отсутствует прогрессирование или которые не умирают на дату завершения сбора данных, будут цензурированы на дату их последней адекватной оценки опухоли. Данные по PFS будут обобщены с использованием описательной статистики (среднее значение, стандартное отклонение, медиана, минимум и максимум) для популяции, подвергнутой лечению. За исключением медиан, которые будут рассчитаны на основе как наблюдаемых, так и цензурированных показателей с использованием метода Каплана-Мейера, все остальные статистические данные (среднее значение, стандартное отклонение, минимум и максимум) будут рассчитаны только на основе наблюдаемых значений.

Общую выживаемость (OS) измеряют как время, прошедшее с момента введения первой дозы Соединения А до наступления смерти по какой-либо причине, и будут анализировать аналогично способу, описанному для PFS.

Нежелательные явления, включая нежелательные явления, возникающие в ходе лечения (TEAE), лабораторные исследования, основные показатели состояния организма, результаты ECG, общее состояние по шкале ECOG, оценки LVEF, физические обследования, основные показатели состояния организма, подвергание лечению в рамках исследования, оценка сопутствующих лекарственных средств и тестирование на беременность для женщин с репродуктивным потенциалом будет обобщено для популяции, подвергнутой лечению (по когорте, получающей определенную дозу, в части А, и типу опухоли в части В).

Наблюдаемые нежелательные явления классифицируют с использованием Медицинского словаря терминологии регулятивной деятельности (MedDRA), версия 17.1 или выше, класса системы органов (SOC) и предпочтительного термина (PT). В анализе, проводимом у одного и того же субъекта, субъект, имеющий одно и то же АЕ более одного раза, засчитывается только один раз. Все нежелательные явления обобщают по SOC, PT и степени NCI CTCAE (версия 4.0 или выше). Нежелательные явления, приводящие к прекращению лечения в рамках исследования, те, которые классифицируются как степень 3 или 4, нежелательные явления, связанные с исследуемым лекарственным средством, и серьезные нежелательные явления (SAE) (включая смертельные исходы) приводят отдельно в виде таблицы. Для каждого субъекта представлен перечень всех АЕ, TEAE, SAE (включая смертельные исходы) и их атрибуция.

Результаты клинических лабораторных исследований обобщены описательно по когорте, получающей определенную дозу (часть А), или по типу опухоли (часть В) и визиту, которые также отображают изменение от исходного уровня. Таблицы изменений, демонстрирующие изменения (низкие/нормальные/высокие) от исходного уровня до наихудшего лабораторного показателя после исходного уровня, будут отображаться в таблицах кросс-табуляции по когорте, получающей определенную дозу (часть А), или по типу опухоли (часть В). Аналогичные таблицы изменений, демонстрирующие изменение степеней NCI CTCAE от исходного уровня до самой высокой степени тяжести после исходного уровня во время лечебного периода, представлены по когорте, получающей определенную дозу (часть А), или по типу опухоли (часть В) для пригодных анализов. Представлены перечни отклоняющихся от нормы результатов клинических лабораторных исследований согласно степеням тяжести NCI CTCAE (при необходимости), индикаторы отклонения (низкие или высокие) и их клиническая значимость.

Графические изображения (например, графики "спагетти" или блочные диаграммы) представлены для основных лабораторных анализов. Описательная статистика для основных показателей состояния организма, как наблюдаемых значений, так и изменений от исходного уровня, будет обобщена по когорте, получающей определенную дозу (часть А), или по типу опухоли (часть В) и визиту. Таблицы изменений, демонстрирующие изменения от исходного уровня до наихудшего лабораторного показателя после исходного уровня, будут отображаться в таблицах кросс-табуляции по когорте, получающей определен-

ную дозу (часть А), или по типу опухоли (часть В). Результаты измерений основных показателей состояния организма приводятся по субъекту и по визиту. Параметры ECG и изменения от исходного уровня будут обобщены по когорте, получающей определенную дозу (часть А), или по типу опухоли (часть В) и визиту с использованием описательной статистики. Аномальные значения QTc после исходного уровня (как QTcF, так и QTcB) обобщены с использованием таблиц частот для следующих пяти категорий:

- QTc >450 мс,
- QTc >480 мс,
- QTc >500 мс,
- увеличение QTc от исходного уровня >30 мс,
- увеличение QTc от исходного уровня >60 мс.

Изменение от исходного уровня до наилучшей качественной оценки отклонения после исходного уровня (т.е. "Нормальный", "Показатель с клинически не значимым отклонением от нормы" и "Показатель с клинически значимым отклонением от нормы" или "Нормальный" и "Отклоняющийся от нормы") будет отображаться в таблицах кросс-табуляции по когорте, получающей определенную дозу (часть А), или по типу опухоли (часть В). Будет предоставлен перечень параметров ECG по каждому субъекту и визиту.

Формальный промежуточный анализ не планируется. Данные анализируются на постоянной основе.

Что касается статистического метода для эскалации дозы, адаптивную модель BLRM, использующую принцип эскалации дозы с контролем передозировки (EWOC), будут использовать для того, чтобы дать рекомендации относительно дозы и оценить MTD во время фазы эскалации исследования (см. приложение Н). Взаимосвязь с DLT в части исследования, касающегося эскалации дозы, описана следующей байесовской моделью логистической регрессии:

$$\log\left(\frac{p_j}{1-p_j}\right) = \log\alpha + \beta \cdot \log\left(\frac{d_j}{d^*}\right), \alpha > 0, \beta > 0$$

в которой каждая величина p_j представляет собой частоту возникновения дозопонижающей токсичности (DLT) при каждой дозе;

каждая величина d_j представляет собой уровни дозы;

$d^*=90$ мг представляет собой эталонную дозу;

α представляет собой шансы DLT при d^* .

Что касается априорных спецификаций, априорная информация для $(\log(\alpha), \log(\beta))$: неопределенные двумерные нормальные априорные вероятности для параметров модели $(\log(\alpha), \log(\beta))$ извлекали на основе априорных предположений (медиан) из доклинических данных и широких доверительных интервалов для вероятностей DLT при каждой дозе. Априорная MTD принята равной 180 мг на основе доклинических данных. Вероятность DLT для первой дозы считается низкой. Параметры априорных распределений параметров модели выбраны на основе метода построения слабо информативного априорного распределения, как описано в Neuwenschwander et al. (2015) и представлено в табл. 6. На фиг. 5 показано конечное априорное распределение частоты возникновения DLT, полученное из априорного распределения вероятностей, приведенного в табл. 6.

Таблица 6

Параметры априорного распределения для двумерного нормального распределения параметров модели

Параметры	Средние значения	Стандартное отклонение	Корреляция
$\log(\alpha), \log(\beta)$	(-0.693, 0.3936)	(2, 1)	0

Предварительные уровни доз представляют собой следующие: 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180 и 200 мг. Возможно, что некоторые дозы будут пропущены или дополнительные дозы будут добавлены во время исследования на основании новой появившейся информации о безопасности. Затем для каждой когорты субъектов получают апостериорные распределения для вероятностей частот DLT при различных уровнях доз. Результаты этого анализа обобщены с точки зрения оцененных вероятностей того, что истинная частота DLT при каждом уровне дозы будет находиться в каждом из следующих интервалов:

- [0, 0,16] уменьшение дозировки,
- [0,16, 0,33] целевая токсичность,
- [0,33, 1,00] избыточная токсичность.

Следуя принципу эскалации с использованием EWOC, для каждой когорты субъектов рекомендуемая доза представляет собой дозу, имеющую самую высокую апостериорную вероятность того, что частота возникновения DLT будет находиться в целевом интервале (16%, 33%) среди доз, удовлетворяющих EWOC, т.е. маловероятно (<25% апостериорной вероятности), что частота возникновения DLT в указанной дозе будет находиться в интервале избыточной токсичности.

Следует отметить, что доза, которая максимально увеличивает апостериорную вероятность целевой

токсичности, является наилучшей оценкой MTD, но она может не являться допустимой дозой в соответствии с критерием передозировки, если количество данных является недостаточным. Если неопределенная априорная информация используется для вероятностей DLT, на ранних этапах исследования эта процедура эскалации будет отражать консервативную стратегию.

Доза, рекомендуемая адаптивной байесовской логистической моделью, может рассматриваться в качестве руководства и информации, которая должны быть объединена с клинической оценкой профилей токсичности, наблюдаемых во время проведения анализа с целью определения следующего уровня дозы, подлежащего исследованию.

Что касается оценки фармакокинетики, параметры PK в плазме, такие как AUC_{24h} , C_{max} , T_{max} , $t_{1/2}$, CL/F и V_z/F Соединения А, рассчитываются некомпартментным методом анализа из профилей изменения концентрации в плазме Соединения А во времени. Могут быть рассчитаны дополнительные PK параметры, если позволяют данные. Сводные статистические данные, включая количество субъектов (N), среднее значение, стандартное отклонение (SD), коэффициент вариации (CV%), среднее геометрическое, геометрический CV%, медиану, минимум и максимум, представлены для концентрации Соединения А по номинальному моменту времени, дню исследования и когорте, получающей определенную дозу. Средние и индивидуальные графики концентраций в плазме представлены в оригинальном и полулогарифмическом масштабе. Сводные статистические данные показаны для PK параметров Соединения А по дню исследования и когорте, получающей определенную дозу, и представлены в табличной форме. Может быть изучена взаимосвязь между дозой Соединения А, содержанием в плазме крови и выбранными конечными точками (например, показателями токсичности, эффективности и/или биомаркерами).

Для оценки фармакодинамики описательная статистика (N, среднее значение, стандартное отклонение (SD), медиана, минимум и максимум) будет представлена для исходного уровня, значений после исходного уровня и изменений от исходного уровня или процентного изменения от исходного уровня каждого биомаркера по когорте, получающей определенную дозу (часть А), или по типу опухоли (часть В) и визиту. Результаты оценки биомаркеров у субъектов будут нанесены на график зависимости от времени. Сравнение уровней биомаркеров до и во время лечения будет выполнено с помощью рангового критерия Уилкоксона. Если в результате анализа биомаркеров получены достаточные и достоверные результаты, изучают взаимосвязь между процентными изменениями уровней биомаркеров и конечными точками, включая ORR и DCR.

Кроме того, что касается нежелательных явлений, в частности, мониторинга, регистрации и сообщений о нежелательных явлениях, АЕ представляет собой любое вредное, непредусмотренное или нежелательное медицинское явление, которое может возникнуть или ухудшиться у субъекта во время исследования. Это может быть новое интеркуррентное заболевание, ухудшающееся сопутствующее заболевание, травма или любое сопутствующее нарушение здоровья субъекта, включая показатели лабораторных анализов, независимо от этиологии. Любое ухудшение (т.е. любое клинически значимое неблагоприятное изменение частоты или интенсивности предшествующего состояния) следует рассматривать как АЕ. На странице АЕ в CRF должен быть зарегистрирован диагноз или синдром, а не индивидуальные признаки или симптомы диагноза или синдрома. Неправильное употребление, прекращение участия в клиническом исследовании, чувствительность или токсичность к исследуемому препарату следует сообщать как АЕ. О передозировке, случайной или преднамеренной, независимо от того, связана она с АЕ или нет, необходимо сообщать на странице передозировки в CRF. Любые последствия случайной или преднамеренной передозировки исследуемого препарата должны сообщаться как АЕ на странице АЕ в CRF. Если последствием передозировки является SAE, то последствия должны быть указаны в отчете о SAE и на странице АЕ в CRF. Передозировка, приводящая к SAE, должна быть идентифицирована как причина явления в отчете о SAE и в CRF, но не должна сообщаться как само SAE.

В случае передозировки субъект должен находиться под соответствующим наблюдением и получать поддержку по необходимости. В случае передозировки Соединения А известного специфического антидота не существует. Лечение, фактически, будет зависеть от тяжести клинической ситуации, заключения и опыта лечащего врача.

Всех субъектов будут наблюдать в отношении возникновения нежелательных явлений (АЕ) во время исследования. Оценки могут включать мониторинг любых или всех из следующих параметров: клинические симптомы субъекта, результаты лабораторных, патологических, радиологических анализов или хирургические обнаружения, результаты физического обследования или результаты других анализов и/или процедур.

Исследователь регистрирует все АЕ с момента подписания субъектом информированного согласия до 28 дней после последней дозы Соединения А, а также те SAE, о которых стало известно исследователю в любое время после этого, которые предположительно могут быть связаны с соединением А. АЕ и SAE регистрируют на странице АЕ в CRF и в первичных документах субъекта. Обо всех SAE необходимо сообщать в Отдел безопасности лекарственных препаратов (Drug Safety) в течение 24 ч после того, как исследователь получит информацию о явлении, посредством факсимильной связи или другим подходящим способом, используя форму отчета о SAE (SAE Report Form) или утвержденную эквивалентную форму.

Квалифицированный исследователь будет оценивать все нежелательные явления по степени серьезности. SAE представляет собой любое АЕ, возникающее при любой дозе, которое:

- приводит к смерти;
- представляет угрозу для жизни (т.е., по мнению исследователя, субъект имеет непосредственный риск смерти от АЕ);
- требует госпитализации в стационар или продления текущей госпитализации (госпитализация определяется как прием в стационар, независимо от длительности пребывания);
- приводит к постоянной или значительной недееспособности/нетрудоспособности (существенному нарушению способности субъекта выполнять нормальные жизненные функции);
- является врожденной аномалией/врожденным дефектом;
- представляет важное медицинское явление.

Важные медицинские явления определяются как явления, которые могут не быть непосредственно угрожающими жизни или приводить к смерти, госпитализации или инвалидности, но могут представлять угрозу для субъекта или требовать медицинского или хирургического вмешательства, чтобы предотвратить одно из других последствий, перечисленных выше. Следует руководствоваться медицинскими и научными оценками при решении вопроса о том, следует ли рассматривать такое АЕ как серьезное.

Явления, которые не считаются SAE, представляют собой госпитализации с целью:

проведения стандартной процедуры терапии согласно протоколу. Однако госпитализация или продленная госпитализация из-за возникновения осложнения после проведения терапии будет сообщаться как SAE;

проведения стандартного лечения или мониторинга изученного заболевания, не связанного с каким-либо ухудшением состояния;

проведения переливания крови или тромбоцитов в качестве стандартного лечения изученного заболевания. Однако госпитализация или продленная госпитализация из-за возникновения осложнения после такого переливания сообщается как SAE;

проведения процедур исследований согласно протоколу/связанных с заболеванием (например, операция, сканирования, эндоскопия, взятие проб для лабораторных анализов, взятие образца костного мозга). Однако госпитализация или продленная госпитализация из-за возникновения осложнения после таких процедур сообщается как SAE;

госпитализации или продления госпитализации по техническим, практическим или социальным причинам при отсутствии АЕ;

проведения запланированной процедуры (т.е. запланированной до начала лечения в рамках исследования); должна быть задокументирована в первичном документе и CRF. Госпитализация или продленная госпитализация по причине возникновения осложнения сообщается как SAE.

выборочного лечения или выборочной процедуры для уже имеющегося заболевания, не связанного с исследуемым заболеванием, которое не ухудшилось от исходного уровня;

экстренного амбулаторного лечения или наблюдения, которое не приводит к госпитализации, если только не выполняются другие критерии серьезности, указанные выше.

Если АЕ рассматривается как серьезное, должны быть заполнены страница АЕ/экран CRF и форма отчета SAE. Для каждого SAE исследователь будет предоставлять информацию о тяжести, датах начала и окончания, взаимосвязи с IP, действиях, предпринятых в отношении IP, и результате.

В отношении АЕ и SAE исследователь должен оценить тяжесть/интенсивность явления. Тяжесть/интенсивность АЕ будет квалифицирована исходя из симптомов у субъекта в соответствии с текущей активной минорной версией Общих критериев терминологии для нежелательных явлений (СТСАЕ, версия 4.03); http://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/ctc.htm#ctc_40 АЕ, которые не определены в СТСАЕ, должны оцениваться в отношении тяжести/интенсивности в соответствии со следующей шкалой:

Степень 1 = Мягкая токсичность - временный или слабый дискомфорт; никаких ограничений в деятельности; медицинское вмешательство/терапия не требуется.

Степень 2 = Умеренная токсичность - от слабого до умеренного ограничения активности, может потребоваться некоторая помощь; не требуется или требуется минимальное медицинское вмешательство/терапия.

Степень 3 = Тяжелая токсичность - заметное ограничение активности, обычно требуется определенная помощь; требуется медицинское вмешательство/терапия, возможна госпитализация.

Степень 4 = Угрожающая жизни состояние - значительное ограничение активности, обычно требуется значительная помощь; требуется медицинское вмешательство/терапия, возможно потребуются "high-risk care", программа по облегчению страданий безнадежно больных.

Степень 5 = Смерть из-за токсичности.

Термин "тяжелое" часто используют для описания интенсивности конкретного явления (как в случае легкого, умеренного или тяжелого инфаркта миокарда); однако явление, само по себе, может иметь относительно небольшое медицинское значение (например, сильная головная боль). Этот критерий не является идентичным термину "серьезное", который основан на критериях результата или действия

субъекта/явления, связанных с явлениями, которые представляют угрозу для жизни или функционирования субъекта. Серьезность, а не тяжесть, служит руководством для определения регламентирующих обязательств.

Оценка причинности. Исследователь должен определять взаимосвязь между введением Соединения А и возникновением АЕ/SAE как не подозреваемую или подозреваемую, как определено ниже:

Не подозреваемая: причинно-следственная связь нежелательного явления с введением Соединения А является маловероятной или отдаленной или другие лекарственные средства, терапевтические вмешательства или основные заболевания объясняют в достаточной степени наблюдаемое явление.

Подозреваемое: существует предполагаемая вероятность того, что введение Соединения А вызывает нежелательное явление. "Предполагаемая вероятность" означает, что существуют основания предполагать наличие причинно-следственной связи между IP и нежелательным явлением.

Причинная связь должна быть оценена и представлена для каждого АЕ/SAE на основании информации, имеющейся на текущий момент. Причинная связь должна подвергаться переоценке и предоставляться по мере поступления дополнительной информации. Если явление оценивают как подозреваемое, т.е. связанное с препаратом сравнения, вспомогательным или дополнительным к Соединению А препаратом, который не был изготовлен или предоставлен спонсором, необходимо указать имя производителя при сообщении о явлении.

Что касается длительности, как для АЕ, так и для SAE исследователь делает запись о датах начала и окончания явления. Исследователь сообщает о решениях, принятых в отношении IP, после возникновения АЕ или SAE, в зависимости от обстоятельств (например, прекращении, прерывании или снижении дозы IP, в зависимости от обстоятельств), и сообщает, было ли назначено сопутствующее и/или дополнительное лечение этого явления. Исследователь сообщает об исходе явления как для АЕ, так и для SAE. Все SAE, которые не разрешились после прекращения участия субъекта в исследовании, должны наблюдаться до восстановления (возвращения к исходному уровню), восстановления с последствиями или смерти (вследствие SAE).

Что касается отклоняющихся от нормы лабораторных показателей (Abnormal Laboratory Values), отклоняющийся от нормы лабораторный показатель считается АЕ, если отклонение:

приводит к прекращению участия в исследовании;

требует лечения, модификации дозы/прерывания дозирования Соединения А или любого другого терапевтического вмешательства; или

считается имеющим значительную клиническую важность, например указывает на новый патологический процесс и/или токсичность для органов; или

представляет собой обострение или ухудшение текущего состояния.

Независимо от степени тяжести, только отклонения лабораторных показателей от нормы, которые отвечают критерию серьезности, должны быть документально зафиксированы как серьезное нежелательное явление. Если отклонение лабораторного показателя от нормы является одним из компонентов диагноза или синдрома, то только диагноз или синдром должен быть зарегистрирован на странице АЕ/экране CRF. Если отклонение от нормы не являлось частью диагноза или синдрома, то отклонение лабораторного показателя от нормы должно быть зарегистрировано как АЕ. Если возможно, отклонение лабораторных показателей от нормы должно быть зарегистрировано в виде медицинского термина, а не просто отклоняющегося от нормы лабораторного результата (например, регистрация как тромбоцитопения, а не пониженный уровень тромбоцитов).

Все беременности или подозреваемые беременности, возникающие у женщины-субъекта с репродуктивным потенциалом или у партнера с репродуктивным потенциалом мужчины-субъекта, являются немедленно сообщаемыми явлениями. Подвергание любой беременной женщины (например, лицо, осуществляющее уход, фармацевт, координатор или наблюдатель клинического исследования) воздействию Соединения А также является немедленно сообщаемым явлением. Беременности и подозреваемые беременности (включая повышенный β -hCG или положительный тест на беременность у субъекта-женщины, обладающей детородным потенциалом, независимо от патологического состояния), возникающие пока субъект принимает Соединение А, или в течение трех месяцев (подлежит определению) после приема субъектом последней дозы Соединения А, считаются немедленно сообщаемыми явлениями. Прием исследуемого препарата должен быть немедленно прекращен. Беременность, подозреваемая беременность или положительный тест на беременность должны сообщаться в Sponsor Drug Safety немедленно по электронной почте, по телефону, или посредством факсимильной связи, или другим подходящим способом с использованием формы "Pregnancy Initial Report Form" или утвержденной эквивалентной формы.

Субъект-женщина должна быть направлена к акушеру-гинекологу, предпочтительно с опытом в области репродуктивной токсичности, для дальнейшей оценки и консультирования. Исследователь наблюдает субъекта-женщину до завершения беременности и должен незамедлительно уведомить Sponsor Drug Safety о результатах беременности (нормальном и ненормальном результате) с использованием формы Pregnancy Follow-up Report Form или утвержденной эквивалентной формы. Если исход беременности

был ненормальным (например, спонтанный аборт), исследователь будет сообщать о ненормальном исходе как о АЕ. Если ненормальный исход отвечает любому серьезному критерию, он должен быть сообщен как SAE Sponsor Drug Safety посредством факсимильной связи или другим подходящим способом в течение 24 ч после получения информации исследователем о явлении с использованием формы SAE Report Form или утвержденной эквивалентной формы. Все случаи смерти новорожденных, которые происходят в течение 28 дней после рождения, сообщаются независимо от причинной связи как SAE. Кроме того, любая смерть младенца после 28 дней, которая по мнению исследователя может быть связана с внутриутробным воздействием Соединения А, также должна сообщаться Sponsor Drug Safety посредством факсимильной связи или другим подходящим способом в течение 24 ч после получения информации исследователем о явлении с использованием формы SAE Report Form или утвержденной эквивалентной формы.

Для субъектов-мужчин, если женщина-партнер субъекта-мужчины, принимающего Соединение А, становится беременной, субъект-мужчина, принимающий Соединение А, должен уведомить исследователя, и беременной женщине-партнеру будет рекомендовано немедленно позвонить своему врачу. В случае целесообразности субъекту-мужчине следует прекратить прием Соединения А, но можно возобновить позднее по усмотрению исследователя и медицинского наблюдателя.

Любое АЕ, которое отвечает любому критерию для SAE, требует заполнения формы SAE Report Form дополнительно к регистрации на странице АЕ/экране CRF. Все SAE сообщаются Sponsor Drug Safety в течение 24 ч после получения информации исследователем о событии посредством факсимильной связи или другим подходящим способом (например, по электронной почте) с использованием формы SAE Report Form или утвержденной эквивалентной формы. Эта инструкция относится к первичным сообщениям SAE, а также к любым последующим сообщениям. Исследователь должен обеспечить точность и согласованность данных в этих формах. Это требование относится ко всем SAE (независимо от взаимосвязи с соединением А), возникшим во время исследования (с момента подписания субъектом информированного согласия до 28 дней после последней дозы Соединения А), или к любым SAE, о которых стало известно исследователю в любое время после этого, которые могут быть связаны с соединением А. Серьезные нежелательные явления, возникающие до лечения (после подписания ICD), будут зафиксированы. Отчет о SAE должен содержать подробное описание SAE и включать краткое изложение записей в карте стационарного больного и других соответствующих документов. В случае смерти субъекта и проведении вскрытия, копии отчета о вскрытии и свидетельства о смерти должны быть отправлены в Sponsor Drug Safety, как только они станут доступными. Любая дополнительная информация должна быть подробно изложена в форме SAE Report Form или утвержденной эквивалентной форме и отправлена в Sponsor Drug Safety. В тех случаях, когда это требуется законодательством, исследователь несет ответственность за информирование Экспертного совета организации/Этического комитета (IRB/EC) о SAE и предоставление всей соответствующей первичной и последующей информации о явлении. Исследователь должен хранить копии всей информации о SAE в файле, включая переписку со спонсором и IRB/EC.

Запросы, относящиеся к SAE, передаются от Drug Safety в исследовательский центр посредством факсимильной связи или по электронной почте. Ожидается, что время ответа составит не более пяти (5) рабочих дней. Срочные запросы (например, отсутствие оценки причинной связи) могут обрабатываться по телефону.

Для целей регулятивной отчетности, Drug Safety определяет ожидаемость явлений, связанных с соединением А, на основе Брошюры исследователя (Investigator Brochure). В США все подозреваемые непредвиденные серьезные нежелательные реакции (SUSAR) сообщаются в ускоренном порядке в соответствии с 21 CFR 312.32. Для стран, входящих в Европейскую экономическую зону (ЕАОС), уполномоченный представитель сообщает в ускоренном порядке регулирующим органам и соответствующим комитетам по этике о подозреваемых непредвиденных серьезных нежелательных реакциях (SUSAR) в соответствии с Directive 2001/20/EC и Подробным руководством по сбору, проверке и представлению отчетов о нежелательных реакциях, возникших в результате клинических испытаний исследуемых препаратов для применения у человека (ENTR/CT3), а также в соответствии с требованиями конкретной страны. Нежелательные явления, такие как прогрессирование заболевания, смерть, связанная с прогрессированием заболевания (при отсутствии серьезных явлений, связанных с соединением А), и серьезные явления вследствие рецидива изученного заболевания не будут подлежать ускоренному информированию спонсором регулирующих органов.

Уполномоченный представитель должен уведомлять исследователя о следующем.

Любое АЕ, которое, как подозревается, связано с применением Соединения А в этом исследовании или в других исследованиях, являющееся серьезным и непредвиденным (например, SUSAR).

Любое обнаружение в тестах, проведенных на лабораторных животных, которое предполагает значительный риск для человека, включая сообщения о мутагенности, тератогенности или канцерогенности.

В случае, если требуется национальным законодательством, исследователь должен незамедлительно уведомлять IRB/EC об этих новых серьезных и непредвиденных АЕ или о значительных рисках для субъектов. Исследователь должен хранить копии всей соответствующей информации о безопасности,

включая переписку с поставщиком лекарственного средства, Соединения А, ответственной стороной, и IRB/EC.

Следующие явления считаются достаточными основаниями для прекращения приема субъектом исследуемого препарата:

- Нежелательное явление.
- Прекращение участия в клиническом исследовании субъектом.
- Отсутствие эффективности.
- Решение врача.
- Нарушение протокола.
- Прогрессирующее заболевание.
- Смерть.
- Утрата контакта для последующего наблюдения.
- Другое (указывается в CRF).

Основание для прекращения лечения должно быть зарегистрировано в CRF и в первичных документах. Решение о прекращении лечения субъекта остается обязанностью лечащего врача, которое не будет отложено или отклонено спонсором. Однако до прекращения лечения субъекта исследователь может связаться с медицинским наблюдателем и направить соответствующие подтверждающие документы для рассмотрения и обсуждения.

Следующие явления считаются достаточными основаниями для прекращения участия субъекта в исследовании:

- Не прошел скрининг.
- Нежелательное явление.
- Прекращение участия в клиническом исследовании субъектом.
- Отсутствие эффективности.
- Решение врача.
- Нарушение протокола.
- Прогрессирующее заболевание.
- Смерть.
- Утрата контакта для последующего наблюдения.
- Другое (указывается в CRF).

Причина прекращения лечения должна быть зарегистрирована в CRF и в первичных документах.

Это открытое исследование, поэтому Соединение А указывается на этикетке упаковки.

Субъектам, включенным в исследование, выдают идентификационную карту участника исследования, на которой указано название данного исследования и контактный номер для экстренной связи. Это может быть использовано медицинскими специалистами в случае чрезвычайной ситуации для получения информации, касающейся участия субъекта в исследовании.

Процедуры, изложенные в данном протоколе исследования, касающиеся проведения, оценки и документального оформления данного исследования, должны быть призваны обеспечить, чтобы спонсор, его уполномоченный представитель и исследователь соблюдали Good Clinical Practice (GCP), как описано в руководстве Международной конференции по гармонизации (ICH) и в соответствии с общими этическими принципами, заложенными Хельсинкской декларацией. Исследование будет одобрено IRB/EC до его начала. Исследователь будет руководить всеми аспектами данного исследования в соответствии с применимыми национальными, государственными и местными законами соответствующих регулирующих органов.

Обязанности исследователя изложены в ICH Guideline for Good Clinical Practice и государственных нормативных правовых актах. Персонал или уполномоченный представитель оценивает и утверждает всех исследователей, которые, в свою очередь, отбирают свой персонал. Исследователь должен обеспечить, чтобы все сотрудники, занятые в клиническом исследовании, были надлежащим образом ознакомлены с протоколом, поправками, исследуемым препаратом, а также со своими обязанностями и функциями, связанными с исследованием, включая обязательства по сохранению конфиденциальности в части, касающейся информации о спонсоре. Исследователь должен вести список младших исследователей и других лиц, обладающих необходимой квалификацией, которым он или она делегировали важные, связанные с исследованием, обязанности. Исследователь отвечает за составление списка всех субъектов, подписавших форму информированного согласия (ICF), и проходящих скрининг на участие в исследовании. Субъекты, не прошедшие скрининг, должны иметь причину(ы), зарегистрированную в первичных документах субъекта. Исследователь или назначенный сотрудник штата исследователя должен находиться на месте во время мониторинговых визитов для проверки данных, урегулирования запросов и получения прямого доступа к записям субъектов (например, медицинским записям, офисным картам, картам госпиталя и картам, связанным с исследованием) для проверки первичных данных. Исследователь должен обеспечить своевременное и точное заполнение CRF и запросов.

Исследователь получает информированное согласие субъекта и/или законного представителя субъекта до начала любых процедур, связанных с исследованием. Документальное подтверждение о том, что

информированное согласие подписано до включения субъекта в исследование, и процесс подписания информированного согласия должны быть зарегистрированы в первичных документах субъекта, включая дату. Оригинальное ICF, подписанное и датированное участником исследования и лицом, давшим согласие участнику исследования перед включением субъекта в исследование, должно храниться в файлах исследователя, а копия должна быть выдана участнику исследования. Кроме того, если в протокол внесены поправки и это влияет на содержание информированного согласия, ICF должно быть пересмотрено. Участники исследования, принимающие участие в исследовании после введения в действие измененного протокола, должны повторно подписать пересмотренный вариант ICF. Пересмотренное ICF подписывается и датируется участником исследования и должно храниться в файлах исследователя, а копия должна быть выдана участнику исследования.

Любое изменение протокола исследования должно быть одобрено специалистом по клиническим исследованиям/медицинским наблюдателем. Поправки направляются в IRB/EC для письменного одобрения. Письменное одобрение должно быть получено до введения в действие измененной версии. В письменном подписанном одобрении IRB/EC должно быть указано имя исследователя, номер протокола, название исследования и номер(а) поправки, которая является применимой. Поправки, которые носят административный характер, не требуют одобрения IRB/EC, но будут представлены в IRB/EC в информационных целях.

До начала исследования протокол исследования, ICF и любые другие соответствующие документы представляются в IRB/EC с сопроводительным письмом или формой, в которой перечислены представляемые документы, даты их оформления и место (или регион или область юрисдикции, по необходимости), для которых испрашивается утверждение. Если требуется, документы также будут представлены в государственные органы в соответствии с требованиями местного законодательства. IP может поставляться исследователю только спонсором или его уполномоченным представителем после получения спонсором или его уполномоченным представителем документации по всем этическим и правовым требованиям для начала исследования. Эта документация также должна включать список членов IRB/EC и их должность и квалификации. Если IRB/EC не будет раскрывать имен, должностей и квалификаций членов комитета, IRB/EC будет предложено выпустить заявление, подтверждающее, что состав комитета соответствует GCP. Например, в качестве замены этого списка может быть принят номер IRB General Assurance Number. В официальном одобрении IRB/EC должно быть указано название протокола, номер, номер поправки (по необходимости), место проведения исследования (или регион или область юрисдикции, по необходимости) и любые другие рассмотренные документы. В нем должна быть указана дата принятия решения и поставлена официальная подпись члена комитета. Перед включением первого субъекта в исследование, все этические и правовые требования должны быть выполнены. IRB/EC и, по необходимости, государственные органы должны быть проинформированы обо всех последующих изменениях протокола в соответствии с требованиями местного законодательства. Поправки должны оцениваться на предмет необходимости запрашивания официального одобрения и обновления ICF. Исследователь должен регистрировать все переписки с IRB/EC и, по необходимости, между координатором-исследователем и IRB/EC. Это также относится к любой переписке между исследователем (или координатором-исследователем, по необходимости) и регуляторными органами.

Если требуется законодательством или IRB/EC, исследователь должен представлять в IRB/EC:
Информацию о серьезных или непредвиденных нежелательных явлениях как можно скорее.

Периодические отчеты о ходе исследования.

Отклонения от протокола или все, что может представлять дополнительный риск для субъектов.

Спонсор оставляет за собой право прекратить данное исследование досрочно в любое время по разумным медицинским или административным причинам. Любое досрочное прекращение исследования надлежащим образом документально оформляется в соответствии с местными требованиями (например, IRB/EC, регуляторные органы и т.д.). Кроме того, исследователь или спонсор имеет право прекратить функционирование одного места проведения исследования в любое время во время исследования по медицинским или административным причинам, таким как:

Неудовлетворительный набор.

Несоответствие GCP.

Неточный или неполный сбор данных.

Фальсификация записей.

Несоблюдение протокола исследования.

Что касается обработки и регистрации данных, исследователь должен обеспечить, чтобы записи и документы, относящиеся к проведению исследования и распределению исследуемого препарата, были полными, точными, зарегистрированными и сохраненными. Примеры первичной документации включают карту стационарного больного; клинические и офисные карты; лабораторные записи; заметки; дневники субъектов исследования или вопросники; журналы выдачи медикаментов; записи автоматических устройств; верифицированные и заверенные копии или выписки; микрофиши; рентгеновские снимки и отчеты и любые записи, в том числе хранящиеся в аптеке и лабораториях, а также копии CRF или CD-ROM.

Данные собирают посредством CRF и вводят в клиническую базу данных согласно SOP спонсора. Эти данные электронно проверяют с помощью программ-редакторов, указанных командой клинического исследования. Расхождения в данных будут доведены до сведения команды клинического исследования и персонала центра проведения клинического исследования, по необходимости. Резолюции по этим вопросам будут отражены в базе данных. Контрольный журнал в системе будет отслеживать все изменения, внесенные в данные.

Основные документы должны храниться исследователем в течение периода времени, указанного в соглашении о проведении клинического исследования. Исследователь должен хранить эти документы в течение периода времени, описанного выше, или в соответствии с местными законами или требованиями, в зависимости от того, какой период дольше. Основные документы включают, но без ограничения, следующие:

Подписанное ICF для всех субъектов.

Список идентификационных кодов субъектов, список субъектов, включенных в скрининг (по необходимости) и регистрационный журнал.

Запись всех сообщений между исследователем и IRB/EC.

Состав IRB/EC.

Запись всех сообщений между исследователем, спонсором и их уполномоченным представителем(ями).

Список младших исследователей и других, имеющих соответствующую квалификацию лиц, которым исследователь делегировал важные обязанности, связанные с исследованием, наряду с их функциями в исследовании, профессиональной биографией и их подписями.

Копии CRF (в случае бумажного варианта) и документацию по исправлениям для всех субъектов.

Записи об учете Соединения А.

Запись о любых сохраненных образцах биологических жидкостей или тканей.

Все другие первичные документы (записи субъектов, карта стационарного больного, лабораторные записи и т.д.).

Все другие документы, перечисленные в разделе 8 консолидированного руководства ICH по GCP (Essential Documents for the Conduct of a Clinical Trial).

Исследователь должен уведомить спонсора, если он/она желает передать основные документы кому-либо еще, переместить их в другое место или не может хранить их в течение установленного периода времени. Исследователь должен получить письменное одобрение от спонсора перед уничтожением любых записей. Если исследователь не может выполнить это обязательство, он должен попросить у спонсора разрешения на принятие альтернативных мер. Подробная информация об этих мерах должна быть задокументирована. Все документы, связанные с исследованием, должны быть предоставлены по требованию соответствующих органов здравоохранения. Исследователь или учреждение должны принять меры по предотвращению случайного или преждевременного уничтожения этих документов.

Все аспекты исследования будут тщательно контролироваться спонсором или его уполномоченным представителем на предмет соответствия действующим нормативным актам в отношении текущих GCP и SOP. Спонсор обеспечивает выполнение соответствующих процедур мониторинга до, во время и после исследования. Все аспекты исследования рассматриваются исследователем и персоналом во время визита начала исследования и/или на совещании исследователей. Перед набором субъектов в исследование представитель изучает протокол, CRT, процедуры получения информированного согласия, ведение документации и отчеты о АЕ/SAE с исследователем. Мониторинг включает визиты в центры проведения исследования с исследователем и его/ее сотрудниками, а также любые соответствующие взаимодействия по почте, электронной почте, факсу или телефону. Во время мониторинговых визитов лаборатории, место для хранения исследуемых препаратов, CRF, первичные документы субъектов и вся другая документация исследования проверяется/анализируется представителем спонсора в соответствии с планом мониторинга исследования (Study Monitoring Plan).

Точность проверяют путем выполнения проверки первичных данных, которая заключается в непосредственном сравнении записей, сделанных на CRT, с соответствующей первичной документацией. Любые возникающие расхождения пересматриваются с исследователем и/или его/ее сотрудниками. Любые необходимые исправления будут внесены непосредственно в CRT или посредством запросов исследователя и/или его/ее сотрудников. Процедуры мониторинга требуют, чтобы были проверены информированные согласия, соблюдение критериев включения/исключения, а также документирование SAE и их надлежащая регистрация. Дополнительные действия по мониторингу могут быть указаны в плане мониторинга конкретного исследования.

В дополнение к стандартным процедурам мониторинга, в штате спонсора существует служба обеспечения качества Good Clinical Practice Quality Assurance unit. Представители этой службы будут проводить аудиты клинической исследовательской деятельности в соответствии с SOP спонсора для оценки соответствия руководствам и положениям Good Clinical Practice.

Исследователь обязан предоставить прямой доступ к лабораториям, где проводилось исследование, первичным документам, CRF и соответствующим вспомогательным записям субъектов, принимающих

участие в исследовании, для аудитов и проверок IRB/EC, регулирующих органов (например, FDA, EMA, Health Canada) и уполномоченных представителей компании. Исследователь должен приложить все усилия, чтобы присутствовать при проведении аудитов и/или проверок. Если с исследователем связывается любой регулирующий орган в отношении инспекции, он должен немедленно связаться со спонсором.

Приложение А. Таблица сокращений.

Сокращения или специальные термины	Пояснение
ADA	Антитела к лекарственному средству
ADCC	Антителозависимая клеточная цитотоксичность
ADL	Повседневные действия по самообслуживанию
AE	Нежелательное явление
ALL	Острый лимфоидный лейкоз
ALT	Аланинаминотрансфераза (SGPT)
AML	Острый миелоидный лейкоз
ANC	Абсолютное число нейтрофилов
Ara-C	Цитарабин
AST	Аспаратаминотрансфераза (SGOT)
AUC	Площадь под кривой
β -hCG	β -субъединица хорионического гонадотропина человека
BID	Два раза в сутки
BM	Костный мозг
BMI	Индекс массы тела
BSA	Площадь поверхности тела
BUN	Концентрация азота мочевины в крови
C	Цикл
CBC	Общий анализ крови
CD	Кластер дифференцировки
CEBPA α	ССААТ/энхансер-связывающий белок альфа
CI	Доверительный интервал
c-Kit	Рецептор фактора роста тучных и стволовых клеток
CL	Клиренс
C _{max}	Максимальная концентрация лекарственного средства в плазме крови
CNS	Центральная нервная система
CR	Полная ремиссия
CRc	Цитогенетическая полная ремиссия
CRi	Полная ремиссия с неполным восстановлением количества нейтрофилов
CRp	Полная ремиссия с неполным восстановлением количества тромбоцитов
CRP	C-реактивный белок
CRR	Процент пациентов с полной ремиссией

CRO	Контрактная исследовательская организация
CRF	Индивидуальная регистрационная карта
CRP	Специалист по клиническим исследованиям
CRS	Научный советник по клиническим исследованиям
CRT	Кальретикулин
CT	Компьютерная томография
CTCAE	Критерии оценки степени тяжести наиболее частых нежелательных явлений
CV%	Коэффициент вариации
DAT	Прямой антиглобулиновый тест
DCR	Частота контроля заболевания
DIC	Синдром диссеминированной внутрисосудистой коагуляции
DLT	Дозолимитирующая токсичность
DMC	Комитет по мониторингу данных
DOR	Продолжительность ответа
EC	Комитет по этике
ECG	Электрокардиограмма
ECHO	Эхокардиограмма
ECOG PS	Общее состояние по шкале оценки Восточной объединенной онкологической группы
eCRF	Электронная индивидуальная регистрационная карта
EEA	Европейская экономическая зона
ELISA	Иммуноферментный анализ
EOI	Окончание инфузии
EOT	Окончание лечения
ESR	Скорость оседания эритроцитов
FACS	Сортировка флуоресцентно-активированных клеток
FCBP	Женщины с репродуктивным потенциалом
FDA	Управление по контролю продуктов питания и лекарственных средств
FISH	Флуоресцентная гибридизация in-situ
FLT3	Fms-подобная тирозинкиназа-3
FLT3-ITD	Fms-подобная тирозинкиназа-3-внутренняя tandemная дупликация
FOXP3	Forkhead box P3 (транскрипционный фактор FOXP3
GCP	Надлежащая клиническая практика
GVHD	Болезнь «трансплантат против хозяина»
HBV	Вирус гепатита В
HCV	Вирус гепатита С
HGB	Гемоглобин
HIV	Вирус иммунодефицита человека
HLA	Лейкоцитарный антиген человека
HNSTD	Самая высокая неопасная токсическая доза
HSCT	Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
huCD	Кластер дифференцировки человека
ICD	Документ информированного согласия

ICF	Форма информированного согласия
ICH	Международная конференция по гармонизации
ICSH	Международный совет по стандартизации в гематологии
IFN	Интерферон
IgE	Иммуноглобулин подкласса E
IgG	Иммуноглобулин подкласса G
IL	Интерлейкин
IL-1 β	Интерлейкин-1 бета
IND	Исследуемый новый лекарственный препарат
INR	Международный коэффициент нормализации
IP	Исследуемое лекарственное средство
IPSS-R	Обновленный международный прогностический индекс
IRB	Экспертный совет организации
IRR	Инфузионная реакция
IRT	Интерактивная технология связи
IV	Внутривенное введение
IVIG	Внутривенный иммуноглобулин
IWG	Международная рабочая группа
KC-GRO	Регулирующий рост онкоген
LDH	Лактатдегидрогеназа
LSC	Лейкозные стволовые клетки
LVEF	Фракция выброса левого желудочка
mCR	Полная молекулярная ремиссия
MCP-1	Моноцитарный хемоаттрактантный белок-1
MDR	Множественная лекарственная резистентность
MDS	Миелодиспластический синдром
MedDRA	Медицинский словарь терминологии для регламентации деятельности
MIP-1 α	Макрофагальный белок воспаления-альфа 1
MM	Множественная миелома
MRI	Магнитно-резонансная томография
MTD	Максимально переносимая доза
MUGA	Радионуклидная ангиография
N	Количество
NCI	Национальный институт рака
NHL	Неходжскинская лимфома
NOD-SCID	Non-obese diabetic, severe-combine immunodeficiency, мыши линии NOD-SCID
NOAEL	Максимальная доза, не вызывающая обнаруживаемого вредного воздействия на здоровье человека
NOEL	Максимальная доза, не приводящая к развитию наблюдаемых эффектов
NPM1	Нуклеофозмин 1
NSG	Мыши линии NSG (Non-obese diabetic, severe-combine immunodeficiency gamma)
NTD	Непереносимая доза
O ₂	Кислород

ORR	Частота объективного ответа
OS	Общая выживаемость
PBMC	Мононуклеарные клетки периферической крови
PCR	Полимераза χ
PD	Фармакодинамика
PFS	Выживаемость без прогрессирования заболевания
PK	Фармакокинетика
PLT	Тромбоцит
PR	Частичная ремиссия
PT	Протромбиновое время
PTT	Частичное тромбопластиновое время
Q2W	Каждые две недели
QD	Раз в сутки
QW	Раз в неделю
QWx2	Раз в неделю в течение 2 недель
QWx4	Раз в неделю в течение 4 недель
RAEB	Рефрактерная анемия с избытком бластов
RBC	Количество тромбоцитов
RFS	Безрецидивная выживаемость
RP2D	Доза, рекомендуемая для фазы 2 клинического исследования
SAE	Серьезное нежелательное явление
SAP	План статистического анализа
SC	Комитет по наблюдению за исследованием
SD	Стандартное отклонение
SE	Стандартная ошибка
SGOT	Сывороточная глутамат оксалоацетат трансминаза
SGPT	Сывороточная глутамат-пируват трансминаза
SIRP α	Сигнальный регуляторный белок альфа
SOP	Стандартные операционные процедуры
SRC	Комитет по безопасности
SUSAR	Предполагаемая непредвиденная серьезная нежелательная реакция
$t_{1/2}$	Период полувыведения
t_{max}	Время до достижения максимальной концентрации в плазме
TLS	Синдром лизиса опухоли
TNBC	Трижды негативный рак молочной железы
TNF α	Фактор некроза опухоли альфа
ULN	Верхняя граница нормы
US	Соединенные Штаты
USP	Фармакопея США
V_{ss}	Объем распределения
WBC	Количество лейкоцитов
WHO	ВОЗ (Всемирная организация здравоохранения)
Wks	Недели

Приложение В. RECIST Версия 1.1.

Следующая информация получена/обобщена из Eisenhauer, 2009, New Response Evaluation Criteria in Solid Tumors: Revised RECIST Guideline (Version 1.1). Для дополнительной информации смотри основную ссылку.

Определения.

При скрининге очаги опухоли/лимфатические узлы будут классифицироваться как поддающиеся измерению или не поддающиеся измерению.

Поддающееся измерению заболевание.

Очаги опухоли. Должны быть точно измерены по меньшей мере в одном направлении (самый длинный диаметр в плоскости измерения должен быть зарегистрирован) с минимальным размером:

10 мм по данным компьютерной томографии (СТ) (толщина томографического среза не более 5 мм);

10 мм при измерении калипером во время клинического обследования (очаги, которые нельзя точно измерить с помощью калиперов, должны регистрироваться как не поддающиеся измерению);

20 мм по данным рентгенографии грудной клетки.

Злокачественные лимфатические узлы.

Чтобы считаться патологически увеличенным и поддающимся измерению, размер лимфатического узла должен составлять >15 мм по короткой оси при оценке с помощью компьютерной томографии (толщина томографического среза не должна превышать 5 мм). На исходном уровне и в период после-

дующего наблюдения измерение будет проводиться только по короткой оси.

Не поддающееся измерению заболевание.

Все другие очаги поражения, включая малые очаги (самый длинный диаметр <10 мм или патологические лимфатические узлы по короткой оси от 10 до <15 мм), а также действительно не поддающиеся измерению очаги поражения.

Очаги, считающиеся действительно не поддающимися измерению, включают заболевание мозговых оболочек, асцит, плевральный или перикардиальный выпот, воспалительное заболевание молочной железы, лимфогенное вовлечение кожи или легкого, органомегалию абдоминальных масс/абдоминальную органомегалию идентифицированную путем физического осмотра, которая не поддается измерению с помощью воспроизводимых методов визуализации.

Оценка ответа опухоли.

Целевые поражения.

Когда более чем один поддающийся измерению очаг опухоли присутствует на исходном уровне, все очаги, вплоть до максимум пяти очагов в общей сложности (и максимум двух очагов на орган), представляющих все вовлеченные органы, должны быть идентифицированы как целевые очаги поражения и будут зарегистрированы и измерены на исходном уровне. Целевые очаги поражения должны быть выбраны исходя из их размера (очаги с самым длинным диаметром), представлять все вовлеченные органы, но, кроме того, должны быть такими, которые поддаются повторным воспроизводимым измерениям. Следует отметить, что патологические узлы должны соответствовать поддающемуся измерению критерию короткой оси ≥ 15 мм с помощью СТ-сканирования, и только короткая ось этих узлов будет влиять на исходную сумму. Все другие патологические узлы (с короткой осью ≥ 10 мм, но менее 15 мм) следует рассматривать как нецелевые очаги поражения. Узлы с короткой осью <10 мм считаются непатологическими и не должны регистрироваться или наблюдаться. На исходном уровне должна быть зарегистрирована сумма целевых очагов (самый длинный диаметр очагов опухоли плюс короткая ось лимфатических узлов: в общей сложности максимум 5).

После исходного уровня величина должна быть внесена в eCRF для всех идентифицированных целевых очагов для каждой оценки, даже очень малых. Если очаги являются чрезвычайно малыми и слабыми, и не могут быть точно измерены, но считаются присутствующими, может быть использовано значение по умолчанию 5 мм. Если очаги являются слишком маленькими и, как полагают, фактически отсутствуют, может быть использовано значение по умолчанию 0 мм.

Нецелевые очаги поражения.

Все не поддающиеся измерению очаги (или очаги заболевания) и любые поддающиеся измерению очаги дополнительно к тем, которые указаны как целевые очаги, рассматриваются как нецелевые очаги. Измерения не требуются, но эти очаги должны быть указаны на исходном уровне и должны рассматриваться как "присутствующие", "отсутствующие" или "очевидное прогрессирование".

Критерии ответа.

Целевые и нецелевые очаги оценивают в отношении ответа отдельно, а затем опухолевую нагрузку в целом оценивают как общий ответ.

Ответ целевого очага поражения: Целевые очаги оценивают следующим образом:

Полный ответ (CR). Исчезновение всех целевых очагов. Любые патологические лимфатические узлы (целевые или нецелевые) должны иметь уменьшение по короткой оси до <10 мм.

Частичный ответ (PR). Снижение по меньшей мере на 30% суммы диаметров целевых очагов с использованием в качестве сравнения суммы диаметров на исходном уровне.

Прогрессирование заболевания (PD). Увеличение по меньшей мере на 20% суммы диаметров целевых очагов, с использованием в качестве сравнения наименьшей суммы в исследовании (это включает исходную сумму, если она является наименьшей в исследовании). В дополнение к относительному увеличению на 20%, сумма также должна демонстрировать абсолютное увеличение по меньшей мере на 5 мм. (Примечание: появление одного или нескольких новых очагов также считается прогрессированием).

Стабилизация заболевания (SD). Ни достаточное уменьшение массы опухоли для того, чтобы квалифицировать как PR, ни достаточное увеличение, чтобы квалифицировать как PD, используя для сравнения наименьшую сумму диаметров во время исследования.

Ответ нецелевого очага поражения: Нецелевые очаги будут оцениваться следующим образом:

Полный ответ (CR). Исчезновение всех нецелевых очагов и нормализация уровня опухолевого маркера. Все лимфатические узлы должны быть непатологическими по размеру (<10 мм по короткой оси).

Ne-CR/Ne-PD. Устойчивость одного или нескольких нецелевых очагов и/или сохранение уровня опухолевого маркера выше нормальных пределов.

Прогрессирование заболевания (PD). Очевидное прогрессирование (см. комментарии ниже) существующих нецелевых очагов. (Примечание: появление одного или нескольких новых очагов также считается прогрессированием).

В случае, когда субъект имеет также поддающееся измерению заболевание: В этих условиях для

достижения "очевидного прогрессирования" на основе нецелевого заболевания должен быть общий уровень значительного ухудшения нецелевого заболевания таким образом, что даже в присутствии SD или PR в целевом заболевании общая опухолевая нагрузка увеличивается в достаточной степени, чтобы прекратить терапию. Умеренное "увеличение" размера одного или нескольких нецелевых очагов обычно недостаточно для статуса очевидного прогрессирования. Представление статуса общего прогрессирования исключительно на основе изменения нецелевого заболевания в условиях SD или PR целевого заболевания будет, следовательно, крайне редким.

В случае, когда у субъекта имеется только не поддающееся измерению заболевание: Это обстоятельство возникает в некоторых испытаниях Фазы 3, когда критерием включения в исследование не является наличие поддающегося измерению заболевания. Те же общие понятия применяются в настоящем документе, как отмечено выше; однако, в этом случае нет оценки поддающегося измерению заболевания, которая могла бы повлиять на интерпретацию увеличения нагрузки не поддающегося измерению заболевания. Так как ухудшение нецелевого заболевания не может быть легко оценено количественно (по определению: если все очаги поражения являются действительно не поддающимися измерению), полезный тест, который может быть применен при оценке субъектов в отношении очевидного прогрессирования, состоит в оценке, является ли увеличение общей нагрузки заболевания на основе изменения не поддающегося измерению заболевания, сопоставимым по величине с увеличением, которое бы потребовалось, чтобы объявить PD для поддающегося измерению заболевания: т.е. увеличение опухолевой нагрузки, представляющее дополнительное 73%-ное увеличение "объема" (что эквивалентно увеличению на 20% диаметра в поддающемся изменению очаге). Примеры включают увеличение плеврального выпота от "следового" до "значительного", увеличение лимфангита от локализованного до широко распространенного или могут быть описаны в протоколах как "достаточные для того, чтобы потребовалось изменение в терапии". В случае, если наблюдается "очевидное прогрессирование", субъект будет считаться как имеющий общее PD в этот момент. Несмотря на то, что было бы идеально иметь объективные критерии для применения к не поддающемуся измерению заболеванию, сама природа этого заболевания делает это невозможным: следовательно, увеличение должно быть значительным.

Общий ответ следует оценивать в соответствии с табл. 7 для субъектов с целевыми очагами опухолевого поражения и табл. 8 для субъектов только с нецелевыми очагами опухолевого поражения

Таблица 7

Ответ в контрольный момент времени:

Субъекты с целевым (\pm нецелевым) поражением

Ответ целевых очагов	Ответ нецелевых очагов	Новые очаги	Общий ответ
CR	CR	Нет	CR
CR	Не-CR/ не-PD	Нет	PR
CR	Не поддающийся оценке	Нет	PR
PR	Не-PD или не все оценивались	Нет	PR
SD	Не-PD или не все оценивались	Нет	SD
Не все оценивались	Не-PD	Нет	NE
PD	Любые	Да или Нет	PD
Любые	PD	Да или Нет	PD
Любые	Любые	Да	PD

CR = полный ответ, PR = частичный ответ, SD = стабилизация заболевания, PD = прогрессирование заболевания,
NE = не поддающийся оценке.

Ответ в контрольный момент времени:
Субъекты только с нецелевым поражением

Ответ нецелевых очагов	Новые очаги	Общий ответ
CR	Нет	CR
He-CR/ не-PD	Нет	He-CR/ не-PD ¹⁾
He все оценивались	Нет	NE
Очевидное PD	Да или Нет	PD
Любое	Да	PD

CR = полный ответ, PR = частичный ответ, SD = стабилизация заболевания, PD = прогрессирование заболевания, NE = не поддающийся оценке.
¹⁾He-CR/не-PD” предпочтительнее “стабилизации заболевания” для нецелевого поражения, так как SD чаще используется в качестве конечной точки для оценки эффективности в некоторых исследованиях, таким образом, присвоение этой категории, когда очаг опухолевого поражения не может быть измерен, не рекомендуется.

Симптоматическое ухудшение.

Субъекты с глобальным ухудшением состояния здоровья, требующим прекращения лечения, без объективных признаков прогрессирования заболевания на этот момент, должны быть указаны как имеющие "симптоматическое ухудшение". Следует предпринять все усилия для регистрации объективного прогрессирования, даже после прекращения лечения. Симптоматическое ухудшение не является показателем объективного ответа: это является причиной прекращения терапии в рамках исследования. Статус объективного ответа таких субъектов должен определяться путем оценки целевого и нецелевого заболевания.

Приложение С.

Обновленные критерии ответа для злокачественной лимфомы International Working Group Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma (Cheson, 2007) доступны в сети Интернет по адресу: <http://jco.ascopubs.org/cgi/reprint/25/5/579> (кликните на "загрузка рукописи в формате PDF").

Приложение D. Критерии общего состояния.

Балл	Описание
0	Больной полностью активен, способен выполнять все, как и до заболевания без ограничения
1	Больной неспособен выполнять тяжелую, но может выполнять легкую или сидячую работу, например, легкую домашнюю или офисную работу.
2	Больной лечится амбулаторно и способен к самообслуживанию, но не может выполнять работу. Более 50% времени бодрствования проводит активно.
3	Больной способен лишь к ограниченному самообслуживанию, проводит в кресле или постели более 50% времени бодрствования.
4	Инвалид, совершенно не способен к самообслуживанию. Прикован к креслу или постели.
5	Смерть

Приложение E. Общие руководства по управлению гипергликемией.

Глюкоза натощак определяется как уровень, наблюдаемый через ≥ 4 ч после последнего приема пищи для оценки дозолимитирующей токсичности и решений по клиническому управлению. Субъекты должны быть проинструктированы о том, как распознавать гипо- и гипергликемию. Любой субъект, который испытывает гипергликемию или симптомы, связанные с гипергликемией, должен быть подвергнут стандартному лечению с прерываниями/сокращениями введения Соединения А. Дополнительные руководства описаны ниже.

В случае стойкой гипергликемии натощак (>126 мг/дл или 14 ммоль/л) или равной степени 2 или выше, в любое время, которое считает подходящим исследователь, рекомендуется начать лечение пероральным антидиабетическим агентом (OAD).

В случае гипергликемии натощак степени ≥ 3 , наблюдение в клинике должно происходить до тех пор, пока гипергликемия не будет устранена до уровня <2 .

В случае стойкой гипергликемии натощак степени 3 (>250 мг/дл или 27,8 ммоль/л) терапию инсулином следует рассматривать либо в сочетании с OAD, либо отдельно. Инсулин длительного действия следует использовать только в том случае, если субъект госпитализирован. Контроль уровня глюкозы должен продолжаться в течение по меньшей мере 6 ч после введения инсулина (быстрое или длительное действие) из-за возможных эффектов отмены. Медицинский наблюдатель должен быть уведомлен.

В случае уровня глюкозы в крови натощак степени 4 (>50 мг/дл или 27,8 ммоль/л) Соединение А будет отложено при иницировании терапии инсулином.

Медицинский наблюдатель должен быть уведомлен. Прерывания лечения на >4 недели потребуют удаления субъекта из данного исследования.

По усмотрению исследователя может быть начат ежедневный домашний контроль путем взятия крови из пальца (воздержание от пищи в утренние часы). Субъектам будет предоставлен глюкометр, и они будут обучены тому, как проводить анализ и фиксировать результаты в дневнике, который будет анализирован во время каждого визита в клинику. Им также будет дано указание, как немедленно связаться с сотрудником по исследованию в случае высокого уровня глюкозы натощак (>160 мг/дл или 8,9 ммоль/л), и в этом случае необходима быстрая оценка в клинике; или позвонить в клинику и указать при посещении клиники, если имеется степень 3 или выше. В таких случаях целесообразно мнение эндокринолога относительно адекватного ведения субъекта.

Глюкофаж и другую терапию бигуанидами следует временно приостановить на время проведения запланированных радиологических оценок опухоли (например, СТ), включающих йодосодержащий контрастный препарат. Goldberg, 2005; и Turina, 2006 предлагают ресурсы для ведения гипергликемии.

Приложение G. Управление биологическими образцами (приложение к лабораторному руководству).

Обращение с образцами и хранение: Все образцы крови и тканей, собранные для анализа экспрессии биомаркеров и генетического исследования, являющегося частью данного исследования, которые не были обесценены после анализа, будут храниться для использования в исследованиях в течение до 5 лет после завершения исследования. С согласия субъекта срок хранения будет увеличен до 20 лет после завершения исследования для использования в будущих исследованиях, чтобы узнать больше о раке и других заболеваниях. Образцы будут храниться в защищенной лабораторной установке, предназначенной для длительного хранения образцов, с соответствующими системами контроля доступа, мониторинга и резервной системой.

Кодирование образцов: Все образцы для анализа экспрессии биомаркеров и генетического исследования будут идентифицироваться только по коду (идентификационный номер субъекта). На этих образцах не будет нанесено никакой другой личной информации. Врач-исследователь будет хранить кодовый ключ. Образцы и кодовый ключ будут храниться конфиденциально и отдельно. Исследователи, которые выполняют анализы на образцах, будут видеть только код и не будут видеть никакой информации, которая конкретно идентифицирует субъекта.

Исследование образцов крови и тканей: Образцы для анализа экспрессии биомаркеров и генетического исследования будут протестированы спонсором или компаниями, нанятыми спонсором, для определения эффектов Соединения А на субъекта и рак субъекта. Это включает определение, демонстрируют ли биомаркеры в клетках крови или опухолевых клетках, что Соединение А является биологически активным. Кроме того, образцы ДНК из цельной крови и опухолевой ткани будут проанализированы на предмет генетических изменений, которые могут коррелировать с ответом субъекта на лекарственное средство.

Отчетность и доступность результатов анализа экспрессии биомаркеров и генетического исследования: Результаты исследования образцов на экспрессию биомаркеров и генетических исследований не будут передаваться субъекту, страховым компаниям и другим третьим лицам, не участвующим в анализе выборки, описанной выше. Результаты не заносятся в медицинские записи субъекта. Результаты предназначены только для исследовательских целей и не будут использованы для принятия решений о повседневной медицинской помощи субъекту.

Имена субъектов и идентификаторы не будут упоминаться в публикациях или отчетах, что сводит к минимуму возможность психологических или социальных рисков, которые могут возникнуть из-за знания результатов анализа экспрессии биомаркеров и генетического исследования, таких как риск для трудоустройства или страховки или риск дискриминации.

Механизм запроса на уничтожение образца после отзыва информированного согласия: Если субъекты отзывают информированное согласие на участие в исследовании, они могут дополнительно сделать запрос об уничтожении их образцов для анализа экспрессии биомаркеров и генетического исследования. В таких случаях субъект будет информировать врача-исследователя о том, что информированное согласие было отозвано, и попросит уничтожить любые хранящиеся, не используемые образцы. Все не используемые образцы будут затем уничтожены спонсором. Если образцы были проанализированы до того, как было отозвано информированное согласие, в этом случае спонсор может использовать уже имеющиеся данные.

Если субъекты дали согласие на хранение образцов для анализов экспрессии биомаркеров и генетических исследований в течение 20 лет для будущих исследований, они также могут отменить это решение в любое время. Субъект будет информировать врача-исследователя о том, что разрешение было отозвано для образцов, которые предполагалось использовать для будущих исследований. Все неиспользованные образцы будут затем уничтожены спонсором. Если образцы были проанализированы до того, как было отозвано согласие, в этом случае спонсор может использовать уже имеющиеся данные.

Приложение Н. Характеристики байесовской логистической регрессионной модели.

Адаптивная байесовская модель логистической регрессии (BLRM, Neuenschwander, et al., 2008) для эскалации дозы с контролем передозировки (EWOC, Babb et al., 1988) может быть использована для управления эскалацией дозы в этом исследовании.

В настоящем приложении представлены показатели производительности (рабочие характеристики), которые иллюстрируют точность дизайна в отношении оценки MTD при различных взаимосвязях дозы и токсичности посредством компьютерного моделирования. Кроме того, рекомендации относительно следующего уровня дозы BLRM с принципом контроля передозировки обеспечены в рамках различных сценариев гипотетического исхода в ранних когортах (принимая, что три оцениваемых пациента имеется в каждой когорте для упрощения), чтобы показать, как это способствует принятию решений об эскалации дозы в исследовании.

Что касается спецификаций и результатов исследования методом моделирования, могут быть рассмотрены рабочие характеристики, которые иллюстрируют точность дизайна в отношении оценки MTD при различных предполагаемых зависимостях истинная доза-токсичность. Моделирования (см. фиг. 6) выполняется для BLRM в пяти сценариях зависимости истинная доза-DLT:

- а) зависимость доза-DLT представляет собой крутую кривую, и MTD достигается при раннем уровне дозы (SE);
- б) зависимость доза-DLT представляет собой крутую кривую, и MTD достигается при среднем уровне дозы (SM);
- в) зависимость доза-DLT представляет собой крутую кривую, и MTD достигается при позднем уровне дозы (SL);
- г) зависимость доза-DLT представляет собой пологую кривую, и MTD достигается при среднем уровне дозы (FM);
- д) зависимость доза-DLT представляет собой пологую кривую, и MTD достигается при позднем уровне дозы (FL).

Таблица 10

P(DLT) для 5 моделированных сценариев

Сценарий	P(DLT) при разном уровне дозы (мг)							
	15	30	60	90	120	150	180	200
SE	0.0879	0.1647	0.2874	0.3800	0.4520	0.5094	0.5563	0.5829
SM	0.0015	0.008	0.0418	0.1045	0.1901	0.2874	0.3857	0.4478
SL	0.000	0.0004	0.0049	0.0224	0.0635	0.1362	0.2389	0.3184
FM	0.0295	0.0677	0.1477	0.2239	0.2928	0.3539	0.4079	0.4402
FL	0.0026	0.0106	0.0428	0.0935	0.1574	0.2284	0.3013	0.349

Рабочие характеристики анализируют для изучения общей эффективности BLRM при каждом истинном сценарии. В табл. 11 обобщены результаты проведенных имитаций

Таблица 11

Сводные данные показателей моделирования для BLRM и сравнение с 3+3

Сценарий/ Способ	Среднее число субъектов	Доля субъектов с DLT	Вероятность рекомендации дозы с истинным значением P(DLT)		
			0.16-0.33	≥ 0.33	< 0.16
SE, N-CRM	20.14	0.23	0.73	0.13	0.15
SE, 3+3	15.35	0.23	0.60	0.11	0.29
SM, N-CRM	24.20	0.13	0.68	0.10	0.22
SM, 3+3	23.76	0.13	0.53	0.12	0.35
SL, N-CRM	26.33	0.10	0.53	0.00	0.47
SL, 3+3	26.81	0.09	0.51	0.00	0.49
FM, N-CRM	22.90	0.16	0.51	0.11	0.38
FM, 3+3	20.26	0.17	0.39	0.12	0.49
FL, N-CRM	25.13	0.12	0.48	0.14	0.47
FL, 3+3	24.77	0.12	0.42	0.11	0.53

В целом модель BLRM с установленной априорной вероятностью функционирует удовлетворительно. С подобным или немного большим размером выборки модель BLRM может выбрать MTD в целевом диапазоне с большей вероятностью, особенно для сценариев "a", "b" и "d".

В отношении гипотетических сценариев эскалации дозы в ранних когортах, помимо общих рабочих характеристик, рассмотренных выше, дизайн должен принимать разумные решения во время исследования на основании наблюдаемой токсичности. После завершения заданной когорты решение об эскалации дозы и фактической дозе, выбранной для последующей когорты, будет зависеть от рекомендации модели BLRM с EWOC и медицинского анализа имеющихся клинических и лабораторных данных.

Некоторые сценарии, иллюстрирующие эскалацию дозы до когорты, получающей третью дозу, перечислены в табл. 12 с использованием 2-параметрической модели BLRM. Предполагается, что в каждой когорте имеется по меньшей мере три оцениваемых пациента. Если любой пациент испытывает DLT, увеличение дозы будет составлять не более чем 50% для любой последующей эскалации дозы. Модель BLRM функционирует удовлетворительно для гипотетических сценариев эскалации дозы.

Таблица 12

Вероятные сценарии вплоть до третьей когорты,
с тремя пациентами на когорту

Сценарий	История дозирования (мг)	#DLT/#Пациент	Следующая доза по N-CRM(мг)
1	15	0/3	30
2	15	0/3	30
	30	0/3	60
3	15	0/3	30
	30	1/3	30
4	15	0/3	30
	30	2/3	15
5	15	0/3	30
	30	0/3	60
	60	0/3	90
6	15	0/3	30
	30	0/3	60
	60	1/3	60

Модель байесовской логистической регрессии позволяет включать доклиническую информацию, а также обновлять рекомендуемую дозу, исходя из всех данных по безопасности в исследовании. При анализе метрик, представленных в таблице, можно видеть, что модель не чувствительна к различным сценариям истины. В целом, эта модель является консервативной из-за критериев контроля передозировки. Во всех сценариях вероятности рекомендации дозы с истинным P(DLT) составляет $\geq 33\%$, так как MTD намного ниже, чем вероятности рекомендации дозы с истинным P(DLT) между 16 и 33%, как MTD.

Рекомендации в период исследования, основанные на этой модели, согласуются с процессом принятия клинических решений и должны рассматриваться в сочетании с другой доступной клинической информацией исследовательским коллективом, назначенным спонсором (Sponsor Clinical Trial Team) и исследователями исследования (Study investigators) при принятии решения относительно уровней дозы, подлежащих тестированию для определения MTD.

Пример 12. Синергические эффекты Соединения А и ингибитора гистондеацетилазы (HDAC), ромидепсина, в мышинной модели ксенотрансплантата PA0165 поджелудочной железы.

Бромодоменсодержащий белок BRD4 семейства BET вовлечен в регуляцию метаболических путей в поджелудочной железе. Экспрессия BRD4 является значительно повышенной в клеточных линиях протоковой аденокарциномы поджелудочной железы по сравнению с экспрессией в человеческих эпителиальных клетках протока поджелудочной железы. Кроме того, исследования показали, что BRD4 способствует пролиферации клеток протоковой аденокарциномы поджелудочной железы и повышает устойчивость к некоторым химиотерапевтическим агентам, таким как гемцитабин. Поэтому ингибирование BRD4 является перспективным с точки зрения лечения рака поджелудочной железы. В результате был проведен эксперимент *in vivo* для того, чтобы понять, может ли опосредованное соединением А ингибирование BRD4 сенсibilизировать опухолевые клетки поджелудочной железы к лечению ингибитором HDAC, ромидепсином.

Когорты 4-6-недельных мышей NSG, несущих PA0165, подвергали лечению путем внутривенного (IV) введения $\times 3$ Q4D 1,5 мг/кг ромидепсина; перорального введения 25 мг/кг Соединения А по схеме QD 3 дня прием, затем 4 дня лекарственные каникулы; или комбинацией Соединения А в дозе 25 мг/кг, перорально, по схеме QD 3 дня прием, затем 4 дня лекарственные каникулы, и ромидепсина в дозе 1,5 или 0,75 мг/кг, IV, по схеме Q7D. Лечение продолжали в течение 21 дня. Значительное ингибирование роста опухолей по данным измерения объемов опухолей наблюдалось для всех лечебных групп (фиг. 8). Взятый в отдельности ромидепсин вызывал значительное ингибирование роста опухоли (TGI), со-

ставляющее 45%. Взятые в отдельности Соединение А вызывало значительное ингибирование роста опухоли (TGI), составляющее 38%. Комбинация Соединения А и ромидепсина продемонстрировала синергию и значительно превосходила все другие режимы с точки зрения TGI (68% в случае применения Соединения А в комбинации с 1,5 мг/кг ромидепсина, 65% в случае применения Соединения А в комбинации с 0,75 мг/кг ромидепсина). У всех лечебных групп наблюдалась существенная потеря веса в период между измерениями на день 10 и день 15, а затем его восстановление. Лечебные группы, получающие только Соединение А или комбинацию, показали значительно более высокий показатель выживаемости, чем лечебная группа, получающая только ромидепсин (фиг. 9). На день 30 после начального лечения показатель выживаемости для лечебной группы, получавшей только ромидепсин, составил около 10%. Напротив, показатели выживаемости для лечебных групп, получающих только Соединение А или комбинацию, составили около 70%. Не было значительного различия в показателе выживаемости между лечебными группами, получавшими только Соединение А и комбинацию.

Пример 13. Синергические эффекты Соединения А и связанного с белком паклитаксела, абраксана, в мышинной модели ксенотрансплантата PA0165 поджелудочной железы.

Бромодоменсодержащий белок BRD4 семейства BET вовлечен в регуляцию метаболических путей в поджелудочной железе. Экспрессия BRD4 является значительно повышенной в клеточных линиях протоковой аденокарциномы поджелудочной железы по сравнению с экспрессией в человеческих эпителиальных клетках протока поджелудочной железы. Кроме того, исследования показали, что BRD4 способствует пролиферации клеток протоковой аденокарциномы поджелудочной железы и повышает устойчивость к некоторым химиотерапевтическим агентам, таким как гемцитабин. Поэтому ингибирование BRD4 является перспективным с точки зрения лечения рака поджелудочной железы. В результате был проведен эксперимент *in vivo* для того, чтобы понять, может ли опосредованное соединением А ингибирование BRD4 сенсibilизировать опухолевые клетки поджелудочной железы к лечению связанным с белком паклитакселом, абраксаном.

Когорты мышей NSG, несущих PA0165, подвергали лечению абраксаном путем внутривенного введения (IV) в дозе 10 мг/кг по схеме 3 Q4D; Соединением А в дозе 25 мг/кг, перорально, по схеме QD 3 дня прием, затем 4 дня лекарственных каникулы; или комбинацией абраксана в дозе 10 мг/кг, IV, Q7D и Соединения А в дозе 25 или 12,5 мг/кг, перорально, по схеме QD 3 дня прием, затем 4 дня лекарственных каникулы. Лечение продолжали 21 день. Значительное ингибирование роста опухоли по данным измерения объемов опухолей наблюдались для всех лечебных групп (фиг. 10). Взятый в отдельности абраксан вызывал значительное ингибирование роста опухоли (TGI), составляющее 55%. Взятые в отдельности Соединение А вызывало значительное ингибирование роста опухоли (TGI), составляющее 49,3%. Комбинация Соединения А и абраксана продемонстрировала синергию и значительно превосходила все другие режимы с точки зрения TGI (78,1% в случае применения абраксана в комбинации с 25 мг/кг Соединения А; 79,1% в случае применения абраксана в комбинации с 12,5 мг/кг Соединения А). Умеренная потеря веса наблюдалась во время части исследования во всех группах; потеря веса тела наблюдалась у мышей, несущих опухоли большего размера. Лечебные группы, получающие комбинацию, показали значительно более высокие показатели выживаемости по сравнению с индивидуальными лечебными группами (фиг. 11). На 41-й день после начального лечения показатель выживаемости для лечебной группы, получавшей только абраксан, составил 0%, а для лечебной группы, получавшей Соединение А, составил около 20%. Напротив, показатель выживаемости для групп, получавших комбинацию, составил около 60% при лечении абраксаном в комбинации с 25 мг/кг Соединения А и 70% при лечении абраксаном в комбинации с 12,5 мг/кг Соединения А соответственно.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

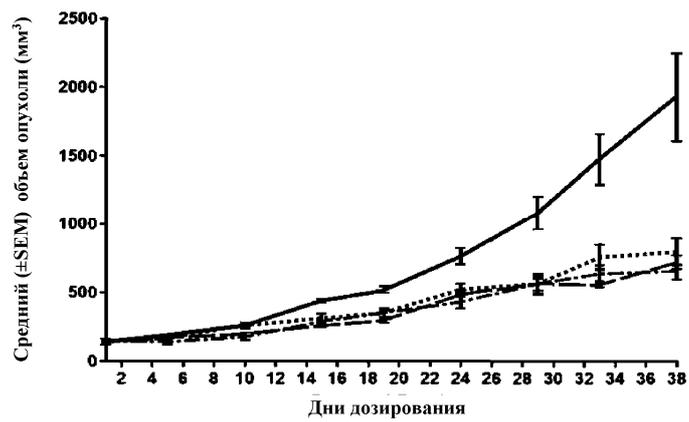
1. Способ лечения глиобластомы, включающий введение пациенту-человеку терапевтически эффективного количества по меньшей мере одного ингибитора бромодомена и экстратерминального белка (BET) и темозоломида, и причем ингибитор BET представляет собой 4-[2-(циклопропилметиламино)-5-метилсульфонилфенил]-2-метилизохинолин-1-он или его фармацевтически приемлемую соль.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что введение ингибитора BET и темозоломида приводит к синергическому уменьшению клеточной пролиферации в опухоли пациента или синергическому увеличению апоптоза в опухоли пациента по сравнению с отдельным введением либо ингибитора BET, либо темозоломида.

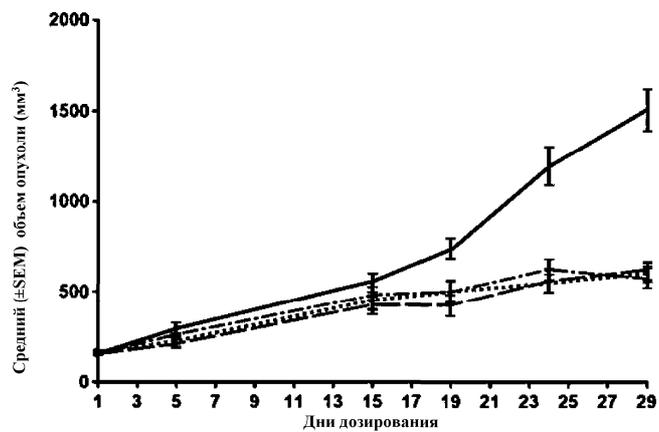
3. Способ по п.1, отличающийся тем, что терапевтически эффективное количество как для ингибитора BET, так и для темозоломида при совместном введении по меньшей мере на 50% ниже, чем при индивидуальном применении ингибитора BET и темозоломида.

4. Способ по п.1, отличающийся тем, что глиобластома является резистентной к темозоломиду.

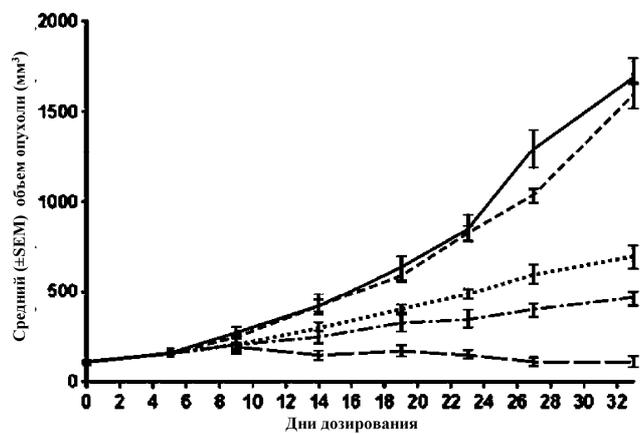
5. Способ по п.1, отличающийся тем, что ингибитор BET присутствует в количестве, которое усиливает терапевтический эффект темозоломида.



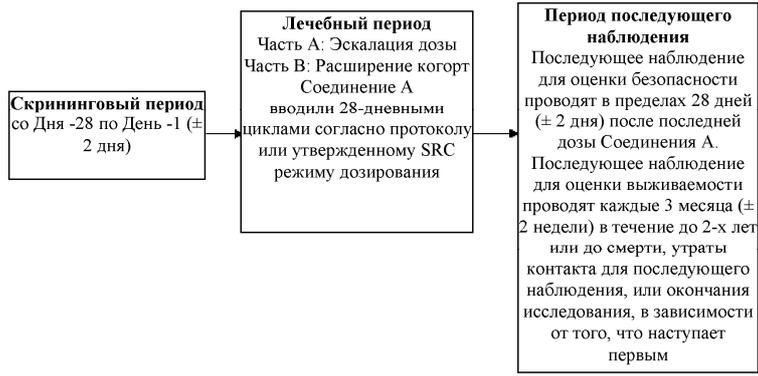
Фиг. 1



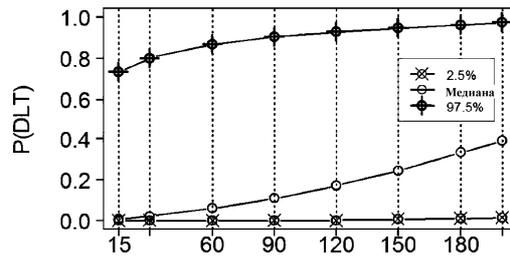
Фиг. 2



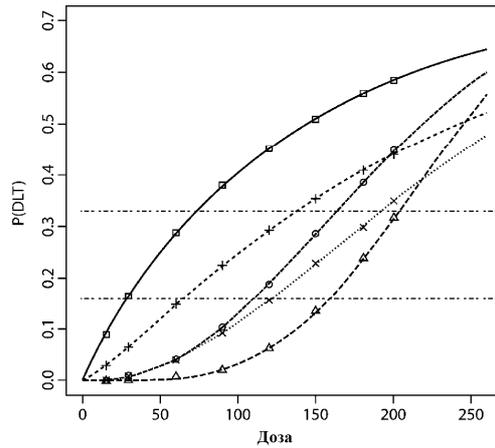
Фиг. 3



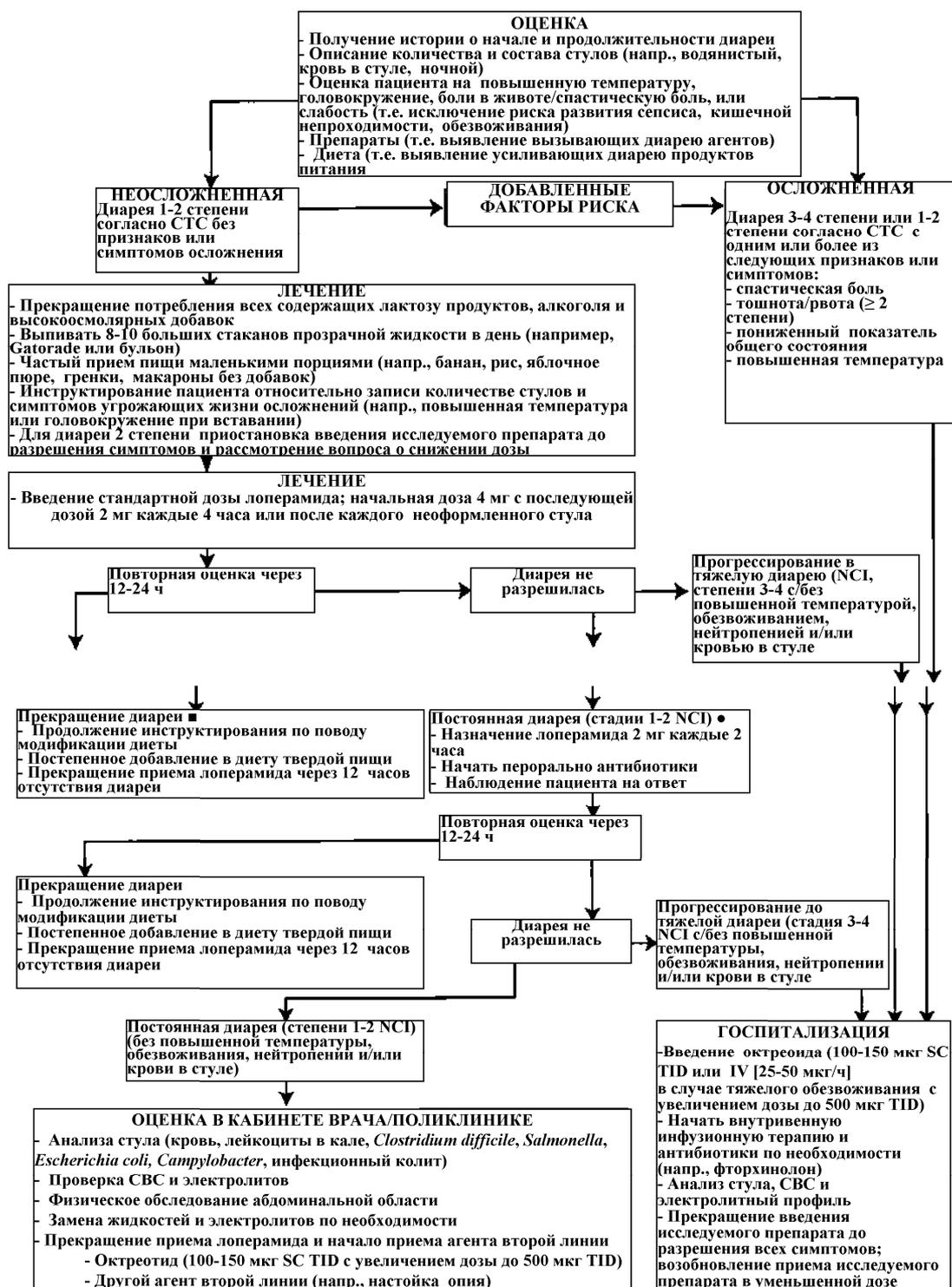
Фиг. 4



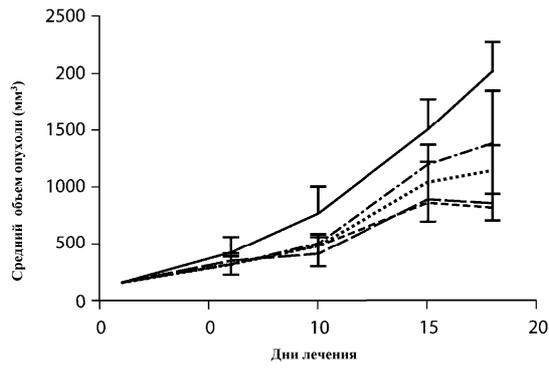
Фиг. 5



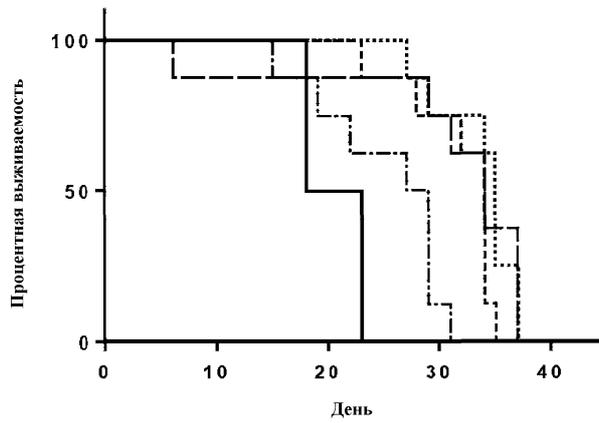
Фиг. 6



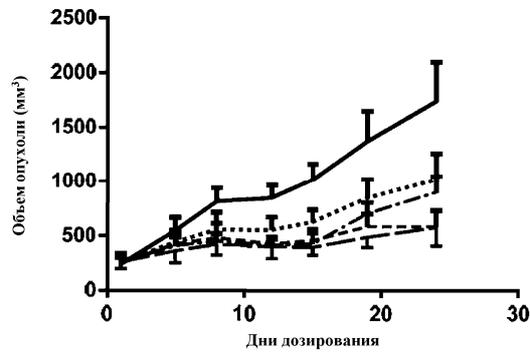
Фиг. 7



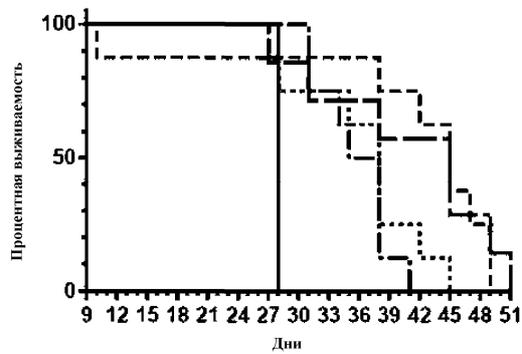
Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11

