

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040279**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.05.17

(51) Int. Cl. *A61K 31/454* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
201990411

(22) Дата подачи заявки
2017.07.28

(54) **СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

(31) **62/368,466; 62/369,239**

(32) **2016.07.29; 2016.08.01**

(33) **US**

(43) **2019.06.28**

(86) **PCT/US2017/044413**

(87) **WO 2018/023017 2018.02.01**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЯНССЕН ФАРМАЦЕВТИКА НВ (BE)

(72) Изобретатель:
**Хокинс Ребекка (РА), Снайдер Линда,
Ямада Дуглас Х., Готгардис Марко
(US)**

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

(56) GRAS JORDI: "Niraparib hydrochloride. Poly [ADP-ribose] polymerase (PARP) inhibitor, Oncolytic", DRUGS OF THE FUTURE, PROUS SCIENCE, ES, vol. 38, no. 10, 1 October 2013 (2013-10-01), pages 679-685, XP009195509, ISSN: 0377-8282, DOI: 10.1358/DOF.2013.38.10.2059820 page 683, left-hand column, last paragraph-right-hand column, paragraph 1

(57) Описаны способы лечения рака предстательной железы путем введения нирапароба нуждающемуся в этом субъекту.

B1

040279

040279

B1

Перекрестные ссылки на родственные заявки.
Не применимо.

Область применения изобретения

Изобретение относится к лечению метастатического ранее не подвергавшегося гормональному лечению рака предстательной железы у человека путем введения такому человеку безопасного и/или эффективного количества нирапариба.

Предпосылки создания изобретения

Рак предстательной железы является наиболее часто встречающейся ненакожной злокачественной опухолью у мужчин и второй ведущей причиной смерти у мужчин от рака в западном мире. Рак предстательной железы обусловлен неконтролируемым ростом аномальных клеток предстательной железы. При развитии раковой опухоли предстательной железы, андрогены, такие как тестостерон, стимулируют рост опухоли предстательной железы. На ранних стадиях локализованный рак предстательной железы часто лечат путем локализованной терапии, включая, например, хирургическое удаление предстательной железы и радиотерапию. Однако если при помощи локализованной терапии не удается вылечить рак предстательной железы, что происходит примерно у трети мужчин, заболевание прогрессирует в неоперабельное метастазирующее заболевание (т.е. заболевание, при котором рак распространяется из одной части тела в другие).

Для уменьшения тестикулярной продукции тестостерона выполняют андроген-депривационную терапию ("ADT") или андроген-супрессорную терапию. К ADT относится хирургическая кастрация (орхиэктомия) или применение антагонистов или агонистов рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона ("LHRH") К примерам антагонистов LHRH относится дегареликс. К примерам агонистов LHRH относятся ацетат гозерелина, ацетат гистрелина, ацетат леупролида и пальмоат трипторелина.

Ацетат абиратерона представляет собой пролекарство абиратерона и ингибирует 17 α гидроксилазу/C17, 20-лиазу (цитохром P450c17 [CYP17]), ключевой фермент биосинтеза андрогенов. Ацетат абиратерона в комбинации с преднизолоном был утвержден для лечения мужчин с метастатическим кастрационно-резистентным раком предстательной железы (mCRPC), ранее получавшим химиотерапию, содержащую доцетаксел. Эффективность и безопасность терапии ацетатом абиратерона (суточная доза 1000 мг в таблетке) и преднизолоном (5 мг два раза в день) у пациентов с mCRPC установлена результатами исследований COU-AA-301 и COU-AA-302, которые оба представляют собой международные, рандомизированные, двойные слепые, плацебо-контролируемые исследования фазы 3. Исследование COU-AA-301 было первым исследованием фазы 3, в котором было продемонстрировано, что дополнительное снижение концентрации тестостерона ниже уровня, достигнутого при помощи андроген-депривационной терапии ("ADT"), с использованием ингибирования CYP17 при помощи ацетата абиратерона улучшает выживаемость пациентов с mCRPC. В исследовании COU-AA-302 была продемонстрирована существенно улучшенная общая выживаемость ("OS") и выживаемость без прогрессирования по рентгенографическим данным ("rPFS") у не получавших ранее химиотерапию пациентов с mCRPC, при лечении ацетатом абиратерона в сочетании с преднизолоном по сравнению с комбинацией плацебо плюс преднизолон.

Необходимы данные для определения того, является ли ацетат абиратерона в сочетании с низкой дозой преднизона и ADT более эффективным, чем только ADT, в плане улучшения rPFS и OS у субъектов с mHNPC с прогностическими факторами высокого риска.

Таким образом, лечение кастрационно-резистентного рака предстательной железы и метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы путем ингибирования поли(АДФ-рибоза)-полимераз (PARP) при помощи нирапариба у пациентов с mCRPC, включая пациентов с аномалиями репарации ДНК. Такое лечение можно выполнять после химиотерапии или проводиться у субъекта, ранее не получавшего химиотерапию. Это лечение можно выполнять после лечения агентами, нацеленными на андрогенные рецепторы (AR), например энзалутамидом, апалутамидом и бикалутамидом. Таким образом, нирапариб может представлять собой еще один вариант лечения.

Изложение сущности изобретения

Изобретение относится к способу лечения рака предстательной железы у человека, нуждающегося в таком лечении, причем способ включает, состоит и/или по существу состоит из введения человеку терапевтически эффективного количества нирапариба.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения рака предстательной железы у человека, нуждающегося в таком лечении, причем способ включает, состоит и/или по существу состоит из введения человеку терапевтически эффективного количества нирапариба, при этом рак предстательной железы представляет собой кастрационно-резистентный рак предстательной железы (CRPC), метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы и/или резистентный к антиандрогенной терапии рак предстательной железы.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения рака предстательной железы у человека, нуждающегося в таком лечении, причем способ включает, состоит и/или по существу состоит из введения человеку нирапариба, при этом человек является носителем по меньшей мере одной аномалии репарации ДНК, выбранной из группы, состоящей из BRCA-1, BRCA-2, FANCA, PALB2, CHEK2, BRIP1, HDAC2 и ATM.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения рака предстательной железы у человека, нуждающегося в таком лечении, причем способ включает, состоит и/или по существу состоит из введения человеку нирапариба, при этом человек является носителем по меньшей мере одной аномалии репарации ДНК, представляющей собой BRCA-1 или BRCA-2.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения рака предстательной железы у нуждающегося в таком лечении человека, причем способ включает, состоит и/или по существу состоит из введения человеку нирапариба в количестве предпочтительно от около 30 мг/сутки до около 400 мг/сутки, более предпочтительно 300 мг/сутки и наиболее предпочтительно однократного ежедневного перорального введения в виде трех пероральных дозированных форм по 100 мг.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к композиции, содержащей нирапариб, для лечения рака предстательной железы, резистентного к антиандрогенной терапии рака предстательной железы, кастрационно-резистентного рака предстательной железы и метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 продемонстрировано, что нирапариб ингибирует рост линий клеток опухоли предстательной железы в условиях *in vitro*.

На фиг. 2 продемонстрировано, что нирапариб подавляет образование PAR в двух линиях человеческих клеток опухоли предстательной железы в условиях *in vitro*.

На фиг. 3 продемонстрировано, что лечение нирапарибом индуцирует повышенный уровень γ -H2AX в клетках 22RV1 дозозависимым образом при измерении методом проточной цитометрии.

На фиг. 4 продемонстрировано, что нирапариб индуцирует γ -H2AX в клетках 22RV1, LNCaP AR-TV и C4-2B в условиях *in vitro*.

На фиг. 5 продемонстрировано, что лечение нирапарибом ингибирует рост опухолей предстательной железы C4-2B-luc у самцов мышей линии NSG.

Подробное описание изобретения

Термин "субъект" обозначает млекопитающее, наиболее предпочтительно человека, являвшегося или являющегося объектом лечения, наблюдения или эксперимента.

Термин "лечение" относится к лечению субъекта, страдающего от патологического состояния, и относится к эффекту, который облегчает состояние путем уничтожения раковых клеток, а также к эффекту, который приводит к ингибированию прогрессирования состояния и включает уменьшение скорости прогрессирования, остановку прогрессирования, облегчение состояния и излечение состояния. Также сюда относится лечение в качестве профилактической меры (т.е. профилактика).

Термин "терапевтически эффективное количество" означает количество нирапариба, вызывающее биологическую или лекарственную реакцию в тканевой системе, которой добивается исследователь, ветеринар, врач или другой медицинский работник. К таким реакциям может относиться ослабление или частичное ослабление симптомов подлежащего лечению заболевания, синдрома, состояния или расстройства.

Термин "безопасное и эффективное количество" относится к количеству нирапариба, которое вызывает предотвращение или облегчение прогрессирования заболевания, а также недопустимой токсичности в человеческом организме.

Термин "композиция" обозначает фармацевтический продукт, включающий установленные ингредиенты, иногда в терапевтически эффективных количествах, а также любой продукт, полученный (непосредственно или опосредованно) из комбинаций установленных ингредиентов в установленных количествах.

Термин "фармацевтически приемлемый" используется в настоящем документе для обозначения тех соединений, материалов, композиций и/или дозированных форм, которые в пределах обоснованного медицинского мнения подходят для применения в контакте с тканями человека, не вызывая излишнего токсического, раздражающего, аллергического ответа или другой проблемы или осложнения, соизмеримого с разумным соотношением пользы/риска. Каждый носитель, эксципиент и т. д. должен быть "приемлемым" в том смысле, что он должен быть совместим с другими ингредиентами состава.

Используемый в настоящем документе термин "андрогенный рецептор" предназначен для включения андрогенного рецептора дикого типа, а также андроген-резистентных AR и/или AR-мутантов, связанных с кастрационно-резистентным раком предстательной железы.

При использовании в настоящем документе термин "антиандроген" относится к группе соединений-антагонистов рецептора гормона, которые способны предотвращать или ингибировать биологические воздействия андрогенов на нормально чувствительные ткани организма. В некоторых вариантах осуществления антиандроген представляет собой малую молекулу. К антиандрогенам относятся энзалутамид, апалутамид и ацетат абиратерона.

При использовании в настоящем документе термин "антиандроген первого поколения" относится к агенту, который проявляет антагонистическую активность против полипептида AR дикого типа. Однако антиандрогены первого поколения отличаются от антиандрогенов второго поколения тем, что антианд-

рогены первого поколения могут потенциально действовать в качестве агонистов при CRPC.

Примеры антиандрогенов первого поколения включают, без ограничений, флутамид, нилутамид и бикалутамид.

При использовании в настоящем документе термин "антиандроген второго поколения" относится к агенту, который проявляет полную антагонистическую активность против полипептида AR дикого типа. Антиандрогены второго поколения отличаются от антиандрогенов первого поколения тем, что антиандрогены второго поколения действуют как полные антагонисты в клетках, экспрессирующих повышенные уровни AR, как, например, при CRPC. Примеры антиандрогенов второго поколения включают 4-[7-(6-циано-5-трифторметилпиридин-3-ил)-8-оксо-6-тиоксо-5,7-дизаспиро[3.4]окт-5-ил]-2-фтор-N-метилбензамид (также известный как ARN-509; номер CAS 956104-40-8); 4-(3-(4-циано-3-(трифторметил)фенил)-5,5-диметил-4-оксо-2-тиоксоимидазолидин-1-ил)-2-фтор-N-метилбензамид (также известный, как MDV3100 или энзалутамид; номер CAS: 915087-33-1) и RD162 (номер CAS 915087-27-3). В некоторых вариантах осуществления антиандроген второго поколения связывается с полипептидом AR на сайте связывания лиганда полипептида AR или вблизи этого сайта.

Используемый в настоящем документе термин "антиандроген третьего поколения" относится к агенту, который проявляет полную антагонистическую активность против полипептида AR дикого типа и против мутантных форм полипептида AR с мутациями, возникающими в лиганд-связывающем домене (LBD) полипептида AR, как изложено ниже. Антиандрогены третьего поколения сохраняют отличие от антиандрогенов первого поколения в том, что антиандрогены третьего поколения действуют как полные антагонисты в клетках, экспрессирующих повышенные уровни AR, как, например, при CRPC.

Используемый в настоящем документе термин "мутант" относится к измененной (по сравнению с эталонной) нуклеиновой кислоте или полипептиду, либо к клетке или организму, содержащему или экспрессирующему такую измененную нуклеиновую кислоту или полипептид.

Если не указано иное, используемый в настоящем документе термин "зависеть" или "зависимый" (по отношению к заболеванию, синдрому, состоянию или расстройству, на которые влияет антагонизм AR) включает снижение частоты и/или тяжести одного или более симптомов или проявлений указанного заболевания, синдрома, состояния или расстройства; и/или включает предотвращение развития одного или более симптомов или проявлений указанного заболевания, синдрома, состояния или расстройства или развития заболевания, состояния, синдрома или расстройства.

Варианты осуществления настоящего изобретения включают пролекарства нирапариба. В целом такие пролекарства будут функциональными производными соединений, которые *in vivo* легко преобразуются в требуемое соединение. Таким образом, в вариантах осуществления настоящего изобретения, раскрывающих способы лечения или профилактики, термин "введение" охватывает лечение или профилактику различных описанных заболеваний, состояний, синдромов и расстройств либо с использованием конкретно описанного соединения, либо с использованием соединения, которое не было конкретно описано, но которое преобразуется в установившееся соединение *in vivo* после введения пациенту. Стандартные методики отбора и получения подходящих производных пролекарств описаны, например, в работе Design of Prodrugs, ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

Андрогенный рецептор (AR)

Андрогены связываются со специфическим рецептором, андрогенным рецептором (AR) внутри клеток тканей-мишеней. AR экспрессируется во многих тканях организма и представляет собой рецептор, через который экспрессируются физиологические, а также патологические эффекты эндогенных лигандов-андрогенов, таких как тестостерон (Т) и дигидротестостерон (ДГТ). По своей структуре AR состоит из трех основных функциональных доменов: лиганд-связывающего домена (LBD), ДНК-связывающего домена и аминного концевой домена. Соединение, которое связывается с AR и имитирует действие эндогенного лиганда AR, называется агонистом AR, тогда как соединение, ингибирующее действие эндогенного лиганда AR, называется антагонистом AR. Связывание андрогенов с рецептором активирует рецептор и заставляет его связываться с сайтами связывания на ДНК, смежными с целевыми генами. Здесь рецептор взаимодействует с белками-коактиваторами и основными факторами транскрипции и регулирует экспрессию генов. Таким образом, через свой рецептор андрогены вызывают изменения в экспрессии генов в клетках. Эти изменения, в конечном счете, действуют на обмен веществ, дифференцировку или пролиферацию клеток, и эти влияния отражаются на физиологии целевой ткани. В предстательной железе андрогены стимулируют рост ткани предстательной железы и клеток рака предстательной железы путем связывания с AR, присутствующими в цитоплазме чувствительной к андрогенам ткани.

Соединения, избирательно модулирующие AR, имеют клиническую значимость для лечения или профилактики различных заболеваний, состояний и раковых заболеваний, включая, без ограничений, рак предстательной железы, доброкачественную гиперплазию предстательной железы, гирсутизм у женщин, алопецию, нервную анорексию, рак молочной железы, акне, костно-мышечные состояния, такие как заболевание костей, гематопозитические состояния, нервно-мышечные заболевания, ревматологические заболевания, рак, СПИД, кахексию, для гормонозаместительной терапии (ГЗТ), для применения в мужской контрацепции, для улучшения мужской половой функции, для состояний, связанных с мужской

репродуктивной функцией, а также первичным и вторичным мужским гипогонадизмом.

Кастрационально-резистентный рак предстательной железы

Агенты (антиандрогены), блокирующие действие эндогенных гормонов (например, тестостерона), являются высокоэффективными и регулярно используются для лечения рака предстательной железы (андрогенная абляция терапия). Хотя андрогенная абляция терапия первоначально эффективно подавляет рост опухоли, в конечном счете почти во всех случаях она заканчивается неудачно, приводя к CRPC. Большинство, но не все, клетки рака предстательной железы изначально реагируют на антиандрогенную терапию. Тем не менее, со временем появляются выжившие популяции раковых клеток предстательной железы, отреагировавшие на селективное давление, созданное андрогенной абляционной терапией, и теперь являющиеся устойчивыми к ней. Первичный рак не только устойчив к имеющимся видам терапии, но раковые клетки также могут отделяться от первичной опухоли, попадать в кровоток и распространять болезнь в удаленные точки организма (в особенности в кости). Это называется метастатическим кастрационально-резистентным раком предстательной железы (mCRPC). Среди других эффектов такой рак вызывает значительную боль и, кроме этого, хрупкость костей у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления рака предстательной железы у субъекта является резистентным или не отвечающим на лечение антиандрогенами, включая, без ограничений, энзалутамид, апалутамид и ацетат абиратерона ("антиандрогенная резистентность").

Получение нирапариба, 2-[4-[(3S)-пиперидин-3-ил]фенил]индазол-7-карбоксамид, можно найти в патенте США № 8,071,623, выпущенном 6 декабря 2011 г. и озаглавленном "Amide Substituted Indazoles as Poly(ADP-Ribose)Polymerase (PARP) Inhibitors", который испрашивает преимущество предварительной заявки на патент США № 60/921,310, поданной 16 февраля 2010 г., а также в патенте США № 8,436,185, выпущенном 7 мая 2013 г. и озаглавленном "Pharmaceutically Acceptable Salts of 2-[4-[(3S)-piperidin-3-yl]phenyl]-2H-indazole-7-carboxamide", который испрашивает преимущество предварительной заявки на патент США № 61/010,333 поданной 8 января 2008 г., каждый из которых включен в настоящий документ путем ссылки.

В настоящем изобретении предложены фармацевтические композиции, содержащие нирапариб и фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтические композиции, содержащие активный ингредиент, могут присутствовать в форме, пригодной для перорального применения, например в виде таблеток, пастилок, леденцов, водных или масляных суспензий, диспергируемых порошков или гранул, эмульсий, твердых или мягких капсул, или сиропов, или эликсиров.

Композиции, предназначенные для перорального применения, могут быть получены в соответствии с любым способом, известным в области производства фармацевтических композиций, и такие композиции могут содержать один или более агентов, выбранных из группы, состоящей из подсластителей, ароматизаторов, красителей и консервантов для получения фармацевтически первоклассных и приятных на вкус препаратов. Таблетки содержат активный ингредиент в смеси с нетоксичными фармацевтически приемлемыми эксципиентами, подходящими для изготовления таблеток. Такие эксципиенты могут представлять собой, например, инертные разбавители, такие как карбонат кальция, карбонат натрия, лактоза, фосфат кальция или фосфат натрия; гранулирующие и улучшающие распадаемость агенты, например микрокристаллическую целлюлозу, кроскармеллозу натрия, кукурузный крахмал или альгиновую кислоту; связывающие агенты, например крахмал, желатин, поливинилпирролидон или гуммиарабик, и смазывающие агенты, например стеарат магния, стеариновую кислоту или тальк. Таблетки могут не иметь покрытия, или на них известными методами может быть нанесено покрытие, маскирующее неприятный вкус лекарства или замедляющее распад и всасывание в желудочно-кишечном тракте, тем самым обеспечивая устойчивое действие в течение более длительного времени. Например, может использоваться водорастворимый маскирующий вкус материал, такой как гидроксипропилметилцеллюлоза или гидроксипропилцеллюлоза, или замедляющий материал, такой как этилцеллюлоза или ацетобутират целлюлозы.

Составы для перорального применения могут также быть представлены в виде твердых желатиновых капсул, в которых активный ингредиент смешан с инертным твердым разбавителем, например карбонатом кальция, фосфатом кальция или каолином, или в виде мягких желатиновых капсул, в которых активный ингредиент смешан с водорастворимым носителем, таким как полиэтиленгликоль, или с масляной средой, например арахисовым маслом, парафиновым маслом или оливковым маслом.

Водные суспензии содержат активный материал в смеси с эксципиентами, подходящими для производства водных суспензий. Такие эксципиенты представляют собой суспендирующие агенты, например натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы, метилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, альгинат натрия, поливинилпирролидон, трагакантовую камедь и гуммиарабик; диспергирующие или смачивающие агенты могут представлять собой фосфатид природного происхождения, например лецитин, или продукты конденсации алкиленоксида с жирными кислотами, например стеарат полиоксиэтилена, или продукты конденсации этиленоксида с длинноцепочечными алифатическими спиртами, например гептадекаэтиленоксидетаналь, или продукты конденсации этиленоксида с неполными эфирами, полученными из жирных кислот и гексита, например моноолеат полиоксиэтилсorbitола, или продукты конденсации этиленоксида с неполными эфирами, полученными из жирных кислот и ангидридов гексита, например

моноолеат полиэтиленсорбитана. Водные суспензии также могут содержать один или более консервантов, например этил или н-пропил п-гидроксibenзоат, один или более красителей, один или более ароматизаторов и один или более подсластителей, таких как сахароза, сахарин или аспартам.

Масляные суспензии могут быть приготовлены путем суспендирования активного ингредиента в растительном масле, например арахисовом масле, оливковом масле, кунжутном масле или кокосовом масле, или в минеральном масле, таком как парафиновое масло. Масляные суспензии могут содержать загуститель, например пчелиный воск, твердый парафин или цетиловый спирт. Можно добавлять подсластители, такие как описанные выше, и ароматизаторы для получения приятного на вкус препарата для перорального введения. Эти композиции можно защищать путем добавления антиоксиданта, такого как бутилированный гидроксианизол или альфа-токоферол.

Диспергируемые порошки и гранулы, подходящие для приготовления водной суспензии путем добавления воды, обеспечивают активный ингредиент в смеси с диспергирующим или смачивающим агентом, суспендирующим агентом и с одним или более консервантами. Подходящие диспергирующие или смачивающие агенты и суспендирующие агенты представлены вышеупомянутыми примерами. Также могут присутствовать дополнительные эксципиенты, например подсластители, ароматизаторы и красители. Эти композиции можно защищать путем добавления антиоксиданта, такого как аскорбиновая кислота.

Фармацевтические композиции изобретения также могут присутствовать в форме эмульсии типа "масло в воде". Масляная фаза может представлять собой растительное масло, например оливковое масло или арахисовое масло, или минеральное масло, например парафиновое масло, или их смеси. Подходящие эмульгирующие агенты могут представлять собой фосфатиды природного происхождения, например соевый лецитин, и эфиры или неполные эфиры, полученные из жирных кислот и ангидридов гексита, например моноолеат сорбитана, и продукты конденсации указанных неполных эфиров с этиленоксидом, например моноолеат полиоксиэтиленсорбитана. Эмульсии также могут содержать подсластители, ароматизаторы, консерванты и антиоксиданты.

Сиропы и эликсиры могут быть приготовлены с использованием подсластителей, например глицерина, пропиленгликоля, сорбита или сахарозы. Такие составы также могут содержать средства, уменьшающие раздражение, консервант, ароматизаторы и красители, а также антиоксидант. Фармацевтические композиции могут иметь форму стерильного водного раствора для инъекций. Приемлемые носители и растворители, которые можно использовать, представляют собой воду, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия фармацевтической чистоты.

Стерильный препарат для инъекций также может представлять собой стерильную микроэмульсию "вода в масле", в которой в масляной фазе растворен активный ингредиент. Например, активный ингредиент может быть сначала растворен в смеси соевого масла и лецитина. Затем масляный раствор вводят в смесь воды и глицерина и подвергают воздействию для образования микроэмульсии.

Растворы для инъекций или микроэмульсии можно вводить в кровотока пациента путем локальной болюсной инъекции. В альтернативном варианте осуществления может быть полезно вводить раствор или микроэмульсию таким образом, чтобы поддерживать в крови постоянную текущую концентрацию соединения. Для поддержания такой постоянной концентрации можно использовать устройство непрерывной внутривенной доставки. Примером такого устройства является внутривенный насос Deltac CADD-PLUS™ модели 5400.

Фармацевтические композиции могут иметь форму стерильного водного раствора для инъекций или масляной суспензии для внутримышечного или подкожного введения. Эта суспензия может быть приготовлена в соответствии с известным уровнем техники с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов, которые были упомянуты выше. Стерильный препарат для инъекций также может представлять собой стерильный раствор для инъекций или суспензию в нетоксичном разбавителе или растворителе, приемлемом для парентерального введения, например, в виде раствора в 1,3-бутандиоле. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды традиционно используют стерильные нелетучие масла. Для этой цели можно использовать любое мягкое нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, для получения препаратов для инъекций применяют жирные кислоты, такие как олеиновая кислота.

Нирапариб можно также вводить в виде суппозитория для ректального введения лекарственного средства. Данные композиции можно получать путем смешивания лекарственного средства с приемлемым нераздражающим эксципиентом, являющимся твердым при обычной температуре, но жидким при ректальной температуре, и поэтому плавящимся в прямой кишке с высвобождением лекарственного средства. К таким материалам относятся какао-масло, глицеринированный желатин, гидрогенизированные растительные масла, смеси полиэтиленгликолей различной молекулярной массы и эфиры жирных кислот и полиэтиленгликоля.

Для местного применения используют кремы, мази, гели, растворы или суспензии и т. д., содержащие быстрорастворимые соединения. (Для целей настоящей заявки к местному применению относятся средства для очистки и полоскания рта.)

Нирапариб можно вводить в форме для интраназального введения с местным нанесением подходя-

щих интраназальных носителей и средств доставки или трансдермально с использованием таких форм, как кожные трансдермальные пластыри, хорошо известные средним специалистам в данной области. Для введения в форме трансдермальной системы доставки введение дозы, конечно, должно быть скорее непрерывным, чем периодическим, на протяжении всей схемы приема лекарственного средства. Нирапариб можно вводить в форме суппозитория с применением таких основ, как какао-масло, глицеринированный желатин, гидрогенизированные растительные масла, смеси полиэтиленгликолей различной молекулярной массы и эфиры жирных кислот и полиэтиленгликоля.

При введении нирапариба субъекту выбранная доза будет зависеть от различных факторов, которые включают, без ограничений, активность конкретного соединения, тяжесть симптомов у индивидуума, способ введения, время введения, скорость выведения соединения из организма, длительность лечения, другие одновременно вводимые лекарственные средства, соединения и/или материалы, и возраст, пол, вес, патология, общее состояние здоровья и анамнез пациента. Количество нирапариба и способы введения, в конечном итоге, определяются по усмотрению врача, хотя в целом доза должна создать такие локальные концентрации в месте действия, которые обеспечивают желаемый эффект, не вызывая существенных вредных или пагубных побочных эффектов.

Введение *in vivo* может производиться одной дозой, непрерывно или периодически (например, разделенными дозами с соответствующими интервалами) на протяжении всего курса лечения. Способы определения наиболее эффективных способов введения и доз хорошо известны специалистам в данной области и варьируют в зависимости от состава, используемого для терапии, от цели терапии, от подвергающихся лечению целевых клеток и от получающего лечение пациента. Можно выполнить одно или несколько введений с уровнем дозы и схемой, выбранными лечащим врачом.

В целом, приемлемая доза нирапариба лежит в диапазоне от около 100 мкг до около 250 мг на килограмм массы тела субъекта в день. Если активное соединение представляет собой соль, сложный эфир, пролекарство и т. п., вводимое количество вычисляют исходя из исходного соединения и реальную используемую массу увеличивают пропорционально.

Терапевтически эффективное количество нирапариба или его фармацевтической композиции для лечения рака предстательной железы включает диапазон доз от около 30 мг/день до около 400 мг/день нирапариба, или любое входящее в него конкретное количество или диапазон, в частности около 300 мг/день, и однократное пероральное введение трех пероральных дозированных форм по 100 мг.

Оптимальные дозы нирапариба для введения могут быть легко определены и будут изменяться в зависимости от конкретного используемого соединения, способа введения, концентрации препарата и прогрессирования заболевания, синдрома, состояния или расстройства. Кроме того, на необходимость корректировки дозы для достижения соответствующего терапевтического уровня и желаемого терапевтического эффекта будут влиять факторы, связанные с конкретным субъектом, получающим лечение, включая пол, возраст, массу тела, рацион питания субъекта и время введения. Следовательно, приведенные выше дозы представляют собой примеры для среднего случая. Разумеется, могут существовать отдельные случаи, в которых требуется применение более высокого или более низкого диапазона доз, и такие случаи входят в объем настоящего изобретения.

Нирапариб можно вводить в виде любой из описанных выше композиций и по любой из описанных выше схем приема, либо с использованием любых известных специалистам в данной области композиций и схем приема, когда применение нирапариба необходимо для нуждающегося в нем пациента.

Примеры

Представленные ниже примеры помогают понять настоящее изобретение и никоим образом не предназначены и не должны рассматриваться как ограничивающие настоящее изобретение, представленное в приведенной ниже формуле изобретения.

Пример 1. Цитотоксичность нирапариба *in vitro* для линий человеческих опухолевых клеток предстательной железы.

Цитотоксичность нирапариба тестировали *in vitro* на нескольких линиях человеческих опухолевых клеток предстательной железы. Известно, что ни одна из опухолевых линий не является дефицитной по BRCA 1 или BRCA 2.

Способы.

Цитотоксичность нирапариба *in vitro* оценивали на 5 линиях человеческих опухолевых клеток предстательной железы: C4-2B, LNCaP, LNCaP AR.TB, VCaP и 22Rv1. Клеточные линии C4-2B, LNCaP, LNCaP AR.TB и 22Rv1 выращивали в среде RPMI1640+GlutaMAX™-I (Life Technologies №61870-036) с добавлением 10% инактивированной нагреванием эмбриональной бычьей сыворотки (FBS) (Life Technologies №16140-071) и заменимых аминокислот (NEAA) (Life Technologies №11140-050); и клетки VCaP выращивали в среде DMEM+GlutaMAX™-I (Life Technologies №10569-010) с 10% FBS и NEAA. Клетки VCaP пересеивали каждые 7 дней; другие клеточные линии пассировали каждые 3-4 дня.

Кинетику роста клеток каждой линии определяли путем посева клеток с различной плотностью и контроля роста с интервалами до 7 дней. Рост определяли с использованием реактива Promega Cell Titer-Glo (№ G7571) для измерения клеточного АТФ с помощью хемилюминесцентной реакции люциферин -

люцифераза. Планшеты считывали на сканере планшетов Perkin-Elmer Envision, и строили график значений люминесценции для определения плотности посева, который позволил определить логарифмическую фазу роста и плотность клеток в линейном диапазоне анализа Cell TiterGlo в нужный момент времени.

Для экспериментов по цитотоксичности нирапариба клетки собирали с использованием краткого применения трипсина, и каждую линию сеяли во внутренние 60 лунок 96-луночных планшетов в 100 мкл среды с подходящей для 7-дневной обработки плотностью. Внешние лунки каждого планшета заполняли фосфатно-солевым буфером Дульбекко (DPBS; Life Technologies №14190-144) для уменьшения испарения из испытательных лунок. Клетки культивировали в течение ночи в планшетах при 37°C в инкубаторе с 5% CO₂ и увлажнением. Обработку начинали с добавления 50 мкл 3X раствора нирапариба (конечные концентрации 500, 125, 31,3, 7,8, 1,95, 0,49, 0,12, 0,03 мкМ) в подходящей среде в лунки в трех повторностях. Конечная концентрация носителя составляла 0,5% DMSO.

Клетки культивировали в течение 7 суток. Относительную жизнеспособность клеток после обработки определяли с помощью реактива Cell TiterGlo, как описано выше. Все выходные значения люминесценции нормализовали к процентному ингибированию относительно средней люминесценции контрольных лунок без обработки, и из каждого значения с обработкой вычитали среднее процентное ингибирование для контрольных лунок с носителем. Строили график зависимости процентного ингибирования от логарифма мкМ концентрации в программном обеспечении GraphPad Prism 7.00. Нелинейную регрессию и расчетные значения EC₅₀ получали с использованием аппроксимации графика зависимости ответа от логарифма концентрации агониста -- Переменный наклон (четыре параметра).

Результаты.

Результаты анализа цитотоксичности представлены на фиг. 1 и в табл. 1. Рост каждой из клеточных линий дозозависимым образом уменьшался при увеличении концентрации нирапариба. Клетки C4-2B оказались наиболее чувствительными, со значением EC₅₀ ~ 1/2 мкМ. Клетки VCaP оказались наименее чувствительными, со значением EC₅₀ 4,1 мкМ.

Таблица 1. Значения EC₅₀ при 7-дневной обработке линий человеческих клеток опухоли предстательной железы нирапарибом

Клеточная линия	EC ₅₀ , мкМ
C4-2B	1,222
LNCaP	3,502
LNCaP AR.TB	2,140
VCaP	4,099
22Rv1	3,517

Пример 2. Ингибирование образования PAR при помощи нирапариба.

Способность нирапариба ингибировать образование поли(АДФ)рибозы (PAR) тестировали на двух линиях человеческой опухоли предстательной железы *in vitro*. Известно, что ни одна из опухолевых линий не является дефицитной по BRCA 1 или BRCA 2.

Способы.

Ингибирование PAR с использованием нирапариба оценивали на 2 клеточных линиях человеческого рака предстательной железы C4-2B и VCaP. Клеточную линию C4-2B выращивали в среде RPMI1640 + GlutaMAX™-I с добавлением 10% FBS и NEAA и пассировали каждые 3-4 дня. Клетки VCaP выращивали в среде DMEM+GlutaMAX™-I с добавлением FBS и NEAA и пересевали каждые 7 дней.

Клетки собирали путем краткой трипсинизации, и каждую линию сеяли на 6-луночные планшеты в 1 мл среды при подходящей плотности. Добавляли еще 500 мкл полной среды до общего объема в лунке 1,5 мл. Клетки культивировали в течение ночи в планшетах при 37°C в инкубаторе с 5% CO₂ и увлажнением. На следующий день среду удаляли из планшетов и клетки промывали с использованием 1 мл бесывороточной среды (RPMI или DMEM соответственно). Обработку начинали с добавления 1 мл раствора нирапариба (конечные концентрации 100, 10, 1, 0,1, 0,01 и 0 мкМ в 0,1% DMSO) в подходящей среде в лунки в трех повторностях. Планшеты возвращали обратно в инкубатор на два часа.

После обработки получали экстракты с использованием реактивов и процедур, указанных для набора HT PARP *in vivo* Pharmacodynamic Assay II (Trevigen №4520-096-K). Из каждой лунки удаляли среду и помещали в отдельные маркированные микроцентрифужные пробирки, а планшеты помещали на лед. Пробирки центрифугировали при 1500 об/мин в течение 4 мин для осаждения всех клеток, которые отделились от планшета во время инкубации с лекарственным средством. Лизирующий буфер готовили с использованием 24,5 мл лизирующего реактива для клеток, 250 мкл 100 мМ раствора PMSF (в этаноле; Sigma №93482) и 250 мкл 100X раствора коктейля протеазных ингибиторов (Thermo Scientific № 78429). Лизирующий буфер (300 мкл) добавляли в каждую лунку планшета на льду. Прикрепленные клетки соскабливали в лизирующий буферный раствор и выдерживали на льду в течение по меньшей мере 15 мин. Супернатант удаляли из микроцентрифужных пробирок, и в каждую пробирку из соответствующих про-

бирок добавляли клеточные лизаты из 6-луночных планшетов. Добавляли SDS (20 мас.%/об.) для доведения конечной концентрации SDS до 1%. Экстракты клеток нагревали при температуре 95-100°C в течение 5 мин. После охлаждения до комнатной температуры в каждую пробирку добавляли 0,01 объема 100X раствора катиона магния и 3 мкл раствора ДНКазы. Пробирки подвергали краткому встряхиванию и возвращали в инкубатор 37°C на 90 мин. После инкубации пробирки центрифугировали при 10000 x g в течение 10 мин при комнатной температуре. Если присутствовал осадок, его удаляли наконечником пипетки, и экстракты переносили в 96-луночный планшет для разведения. Экстракты клеток замораживали при -80°C до использования в количественном определении белка и анализе PAR методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

Твердофазный ИФА проводили в соответствии с протоколом, указанным в инструкции производителя.

Количественное определение белка проводили с использованием совместимого с детергентом набора для анализа белка Biorad DC protein assay kit II (№500-0002) с применением набора стандартов бычьего сывороточного альбумина Biorad Quick Start Bovine Serum Albumin Standard Set (№5000207) согласно протоколу производителя для 96-луночных планшетов. Лизирующий буфер для твердофазного ИФА добавляли к стандартам, а во все лунки с образцами добавляли соответствующий объем PBS с целью коррекции влияния лизирующего буфера на показания концентрации белка. Образцы анализировали в двух повторностях. Во все лунки планшета добавляли буфер А (25 мкл), и в каждую лунку сразу же добавляли по 200 мкл буфера В. Планшеты инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре на шейкере. Поглощательную способность считывали при 750 нм на сканере планшетов Molecular Devices M5 с использованием протокола DC Protein Assay в программном обеспечении SoftMax Pro версии 6.3. Линейную регрессию для стандартной кривой, интерполяцию значений концентрации белка в образцах и усреднение по повторам выполняли в данном программном обеспечении. Данные экспортировали в Excel, где вносили все поправки на разбавление образцов.

Значения люминесценции для анализа PAR методом твердофазного ИФА анализировали в программном обеспечении GraphPad Prism версии 7, где вычисляли линейную регрессию стандартной кривой и интерполяцию значений для образцов. Интерполированные значения PAR (пг PAR на мл) корректировали на разведение образцов и делили на соответствующую концентрацию белка с получением величины пг PAR на мг белка. По этим значениям строили график в GraphPad Prism V7.

Результаты.

Результаты анализа PAR представлены на фиг. 2. Уровень PAR дозозависимым образом уменьшался при увеличении концентрации нирапариба во всех клеточных линиях.

Пример 3. Нирапариб индуцирует γ -H2AX в человеческих линиях опухоли предстательной железы *in vitro*.

Способность нирапариба индуцировать двухцепочечные разрывы в ДНК измеряли в 3 человеческих клеточных линиях рака предстательной железы 22RV1, LNCaP AR.TB и C4-2B. За образованием двухцепочечных разрывов в ДНК следует фосфорилирование смежного гистона γ -H2AX, и это фосфорилирование может быть измерено с помощью окрашивания антителами и проточной цитометрии.

Способы.

Клеточные линии 22RV1, LNCaP AR.TB и C4-2B выращивали как описано выше. Клеточные линии пассировали каждые 3-4 дня.

В случае каждой клеточной линии сеяли по 2×10^5 клеток в каждую лунку 12-луночного планшета (Falcon №353043) в 1 мл среды. Клетки культивировали при 37°C в инкубаторе с 5% CO₂ и увлажнением, затем добавляли 1 мл среды, содержащей 2X концентрированный последовательно разведенный раствор нирапариба с конечными концентрациями 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13, 1,57, 0,78, 0,39, 0,2, и 0,1 мкМ в лунках в трех повторностях. Конечная концентрация носителя составляла 0,2% DMSO, и для каждой клеточной линии также готовили по три повторности контрольных лунок с носителем и средой. Планшеты инкубировали в течение еще 18 ч.

После 18 ч инкубирования с лекарственным средством проводили отбор из каждой из лунок с клетками, для чего сначала переносили 2 мл среды в коническую пробирку на 15 мл (Corning №430798). Затем в лунку добавляли 500 мкл буфера для диссоциации клеток (Gibco № 13151-014) и оставляли на 5 мин. С помощью пипетки объемом 1 мл в лунку добавляли 1 мл среды, клетки отделяли путем пипетирования, и содержащую клетки среду переносили в соответствующую коническую пробирку на 15 мл. Пробирки центрифугировали в течение 5 мин при 1200 об/мин, супернатант удаляли, а осажденные клетки ресуспендировали и переносили в 96-луночный планшет с v-образным дном (Costar №3896). Планшеты центрифугировали при 1800 об/мин в течение 3 мин, супернатант удаляли, затем лунки промывали 200 мкл DPBS. Процесс повторяли, проведя в общей сложности 3 промывки. Далее клетки окрашивали, используя 100 мкл DPBS, содержащего разведенный 1:800 реактив Invitrogen Live/Dead fixable aqua (Invitrogen №L34957), в течение 20 мин при 4°C. Затем клетки промывали 150 мкл BD Pharmingen Stain Buffer (буфер для окрашивания; BD №554657) и центрифугировали при 1800 об/мин в течение 3 мин. Клетки снова промывали 2 раза с использованием 200 мкл буфера для окрашивания, а затем один

раз DPBS.

Клетки фиксировали с использованием 100 мкл смеси 70% этанол/Н₂O при 20°C и планшеты хранили при -20°C в течение 2 ч. Клетки 3 раза промывали буфером для окрашивания, центрифугируя при 2200 об/мин в течение 3 мин между промывками. Далее клетки инкубировали с использованием 100 мкл разведения 1:1 буфера для окрашивания и не содержащего биотина блокатора Fc-рецепторов AXELL (Accurate Chemical & Scientific Corp №NB309) в течение 20 мин при 4°C. Клетки промывали с использованием 150 мкл буфера для окрашивания, затем центрифугировали в течение 3 мин при 2200 об/мин, супернатант удаляли, затем клетки инкубировали с использованием 50 мкл буфера для окрашивания, содержащего 0,2% об./об. Triton X-100 (Acros Organics №21568-2500), в течение 2 ч при комнатной температуре в темноте вместе с разведенным 1: 100 антителом γ -H2AX (Biolegend №613408).

Клетки однократно промывали с использованием 200 мкл буфера для окрашивания, содержащего 0,2% об./об. Triton X-100, а затем однократно промывали с использованием 200 мкл чистого буфера для окрашивания. Клетки повторно суспендировали в 80 мкл буфера для окрашивания, и 50 мкл анализировали на проточном цитометре BD Fortessa. Данные анализировали с использованием программного обеспечения TreeStar FlowJo v9.8.5. Из данных отбирали живые клетки, и затем после дискриминации дублетов оценивали всю популяцию на сигнал антитела γ -H2AX. Результаты графически отображали с помощью GraphPad Prism v7.

Результаты.

На фиг. 3 представлены репрезентативные гистограммы для клеточной линии 22RV1, демонстрирующие влияние различных концентраций нирапариба. Обработанные лекарственным средством образцы сравнивали с контролями, содержащими носитель и среду, и они представлены на фиг. 4. Наиболее низкие концентрации, при которых сигнал γ -H2AX достоверно превышал контроль с носителем, представлены в табл. 2. Результаты показывают, что в каждой линии опухоли предстательной железы нираприб индуцирует γ -H2AX дозозависимым образом.

Таблица 2. Минимальная концентрация нирапариба, индуцирующая достоверное изменение уровня γ -H2AX

Клеточная линия	1-я достоверная концентрация (мкМ)
22RV1	1,57
LnCaP.AR.TB	3,13
C4-2B	1,57

Пример 4. Нираприб ингибирует рост человеческих опухолей предстательной железы C4-2B у мышей.

Активность нирапариба испытывали на предварительно сформированной модели с подкожным введением клеток человеческой опухоли предстательной железы C4-2B не имеющим ожирения мышам с диабетом (NOD) и тяжелым комбинированным иммунодефицитом (scid) гамма (NOD.Cg-Prkdc Il2rg/SzJ) (NSG). Данная модель опухоли не считается дефицитной по BRCA-1 или BRCA-2.

Способы.

Носителем был 0,5%-й раствор метилцеллюлозы (Methocel™ F4M), приготовленный и хранимый при 4°C в темноте. Все составы готовили с возможностью дозирования в объеме 10 мл/кг массы тела. Использовали самцов мышей линии NSG (Jackson Laboratories). Животным давали на привыкание одну неделю до проведения любых экспериментальных процедур. Мышей содержали группами (по 5 в клетке) в одноразовых клетках IVC (Innovive, г. Сан-Диего, штат Калифорния, США) при 12-часовом цикле свет: темнота при температуре от 19 до 22°C и влажности от 35 до 40%. Мыши получали в свободном доступе автоклавированный корм для лабораторных животных с высоким содержанием жира (6%) и воду.

Мышам путем инъекции вводили меченные клетки LNCaP C4-2B-luc (1×10^6 опухолевых клеток в 200 мкл среды Cultrex®:RPMI 1640 (соотношение 1: 1) в правый бок. Мышей рандомизировали по объемам опухоли (объем опухоли=241±14 мм³) по 10 мышей на группу лечения. Каждые сутки мышам посредством зонда (перорально) вводили носитель или носитель с нирапарибом, как указано ниже, при объеме дозы 10 мл/кг. Начало лечения=день 1.

Мыши получали лечение до 24-го дня исследования.

Группа 10 мг/кг носителя (0,5% Methocel F4M), введение ежедневно, перорально.

Группа 225 мг/кг нирапариба в 0,5% Methocel F4M, введение ежедневно, перорально.

Группа 350 мг/кг нирапариба в 0,5% Methocel F4M, введение ежедневно, перорально.

Для каждого отдельного животного массу тела и объем опухоли [по формуле: Объем опухоли (мм³)=(a×b²/2); где "a" представляет собой длину, а "b" - ширину опухоли при определении с помощью измерений штангенциркулем] отслеживали по два раза каждую неделю в течение всего исследования. Для предварительно сформированных опухолей кинетику роста опухоли выражали как среднее значение ± стандартная ошибка среднего (SEM).

Результаты.

Мыши, получавшие носитель, начинали достигать этических пределов по объему опухоли к дню 22 исследования и позднее (см. фиг. 5, где приводятся объемы индивидуальных опухолей). Данные об объемах опухолей представлены до дня 24 исследования (когда в исследовании остались 9 из 10 мышей, получавших носитель). После 18, 22 и 24 дней лечения в группе 3, получавшей 50 мг/кг нирапариба перорально, наблюдалось достоверное ингибирование/замедление роста опухоли при значении ингибирования роста опухоли (TGI) в эти сроки ~ 40%. Достоверные различия в росте опухоли наблюдали на дни 18, 22 и 24 (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001). Мыши, получавшие 25 мг/кг нирапариба, не продемонстрировали достоверного ингибирования роста опухоли, хотя наблюдалось умеренное TGI ~ 12% на дни 22 и 24.

Пример 5.

Проводят многоцентровое открытое исследование для оценки эффективности и безопасности ежедневного однократного введения 300 мг нирапариба субъектам мужского пола возрастом более 18 лет, имеющим mCRPC и аномалии репарации ДНК, прошедшим по меньшей мере один курс химиотерапии таксаном и по меньшей мере один курс терапии антиандрогенами (например, ацетатом абиратерона, энзалутамидом, апалутамидом). В исследовании должно участвовать приблизительно 100 субъектов. Контроль безопасности у субъектов должен осуществляться в течение периода исследования и до 30 дней после последнего введения дозы исследуемого лекарственного средства. Лечение должно продолжаться, пока прогрессирование заболевания, неприемлемая токсичность, гибель или спонсор не прерывают исследование.

Исследование должно состоять из 4 фаз: предскрининговой фазы - только для анализа биомаркеров, фазы скрининга, фазы лечения и фазы последующего наблюдения. Оценки эффективности включают следующее: измерения опухолей - снимки КТ или МРТ грудной полости, брюшной полости и таза, сканирование всего скелета (^{99m}Tc), простатический специфический антиген (PSA) в сыворотке, статус выживания, циркулирующие опухолевые клетки (CTC) и симптоматическое явление в скелете (SSE).

Нирапариб, 300 мг, должен предоставляться в капсулах (3×100 мг) для однократного ежедневного перорального введения. Капсулы необходимо проглатывать целиком. Субъекты должны принимать дозу утром (с пищей или без). Субъекты, которые не подвергались хирургической кастрации, должны продолжать регулярный прием прописанного агониста гонадотропин-рилизинг-гормона (GnRHa), хотя он не рассматривается как исследуемое лекарственное средство. Все лечение GnRHa следует регистрировать в разделе одновременно принимаемых лекарственных средств электронной индивидуальной регистрационной карты (eCRF).

Установлен цикл лечения длительностью 28 дней. Субъекты должны начинать принимать нирапариб в день 1 цикла 1. Достаточные количества нирапариба для каждого цикла лечения необходимо раздавать в первый день каждого цикла. Если субъект пропускает прием, дозу следует принять, если субъект вспоминает о ней приблизительно в течение 12-часового периода. В противном случае субъект должен принять следующую дозу на следующий день без компенсации пропущенной дозы. Пропуск дозы следует указать в eCRF.

Предскрининговая фаза для анализа биомаркеров.

В предскрининговой фазе необходимо провести оценку того, является ли потенциальный субъект положительным по биомаркерам аномалий репарации ДНК. От всех субъектов требуют подписать специальную форму информированного согласия (ICF) на предскрининговую фазу, предоставить основные демографические данные и анамнез конкретного заболевания. Предскрининговая фаза может осуществляться в любое время до фазы скрининга.

Процесс определения положительности по биомаркерам будет разным для субъектов, вошедших в предскрининговую фазу до получения результатов анализа по крови, и субъектов, вошедших после получения результатов анализа по крови. Эти 2 процесса описаны ниже.

Процесс определения положительности по биомаркерам до получения результатов анализа по крови.

Субъект подписывает форму ICF для предскрининга. Если субъект ранее проходил анализ опухолевой ткани по генной панели FoundationOne®, то после того, как субъект дает разрешение, данные FoundationOne® можно изучать для определения их пригодности на основании критериев, указанных в табл. 1. Если субъект является положительным по биомаркерам, он может войти в фазу скрининга. Если субъект ранее не проходил анализ опухолевой ткани по генной панели FoundationOne®, то необходим анализ взятой из архива или недавно полученной (рекомендуется) опухолевой ткани на положительность по биомаркерам с использованием утвержденного спонсором метода. Если субъект является положительным по биомаркерам, он может войти в фазу скрининга.

Образцы крови также следует забрать у всех субъектов в течение предскрининговой фазы и сохранять до получения результатов анализа по крови. Когда стает доступен анализ по крови, сохраненный образец крови необходимо проанализировать и определить соответствие результатам анализа опухолевой ткани. Этот анализ может происходить в любое время после получения результатов анализа по кро-

ви.

Процесс определения положительности по биомаркерам после получения результатов анализа по крови.

Субъект подписывает форму ICF для предскрининга. У субъекта забирают кровь и отправляют на анализ положительности по биомаркерам. Если субъект ранее проходил анализ опухолевой ткани по генной панели FoundationOne®, то после того, как субъект дает разрешение, данные FoundationOne® можно изучать для определения пригодности на основании критериев, указанных в табл. 1. Если субъект является положительным по биомаркерам, он может войти в фазу скрининга, и нет необходимости ждать результатов анализа по крови. Если результаты анализа по генной панели FoundationOne® отрицательны, субъект, тем не менее, может считаться пригодным, если определено, что он является положительным по биомаркерам на основании анализа по крови. Если опухолевую ткань пациента ранее не анализировали по генной панели FoundationOne® и доступна ткань, помещенная в архив, то инициируется запрос на получение и анализ архивированной опухолевой ткани. Если результаты анализа крови являются положительными по биомаркерам, субъект может войти в фазу скрининга, и нет необходимости ждать результатов анализа по помещенной в архив опухолевой ткани. При наличии результаты анализа архивной опухолевой ткани можно использовать совместно с результатами анализа по крови для определения согласованности и для вспомогательных исследований.

Если результаты анализа по крови являются отрицательными, то по усмотрению спонсора исследования для определения пригодности субъекта можно использовать результаты по архивной опухолевой ткани.

Если архивная опухолевая ткань отсутствует, то субъект должен согласиться на забор опухолевой ткани.

Если результаты анализа крови положительны по биомаркерам, то необходимо получить актуальную опухолевую ткань перед днем 1 цикла 1 для дальнейшего использования при определении согласованности и во вспомогательных исследованиях. Анализ недавно полученной опухолевой ткани можно проводить в любое время в ходе исследования, и результаты могут не потребоваться до того, как субъект войдет в фазу скрининга.

Если результаты анализа по крови являются отрицательными, то по усмотрению спонсора исследования для определения пригодности субъекта можно использовать результаты по недавно полученной опухолевой ткани.

После определения положительности субъектов по биомаркерам в ходе предскрининговой фазы, фаза скрининга должна начаться в течение 30 дней.

Фаза скрининга.

Все положительные по биомаркерам субъекты должны подписать форму ICF для основного исследования до проведения всех связанных с исследованием процедур фазы скрининга. В ходе этой фазы необходимо изучить критерии пригодности и провести полное клиническое обследование в соответствии с графиком проведения мероприятий. Скрининговые процедуры необходимо проводить не ранее, чем за 35 дней перед днем 1 цикла 1, если иное не указано особо. Принимаются материалы визуализации, сделанные не ранее, чем за 8 недель перед днем 1 цикла 1. Скрининговые лабораторные анализы клинической безопасности можно использовать в оценках дня 1 цикла 1, если они выполнены в течение 14 дней от цикла 1.

Субъекты, не удовлетворяющие всем критериям включения или удовлетворяющие критерию исключения, могут подвергаться повторному скрининговому исследованию один раз. Повторное скрининговое исследование проводят на усмотрение исследователя, и оно требует утверждения и согласования со спонсором. Субъекты, проходящие повторное скрининговое исследование, должны перед этим повторным исследованием подписать новую форму ICF. Субъекты, подвергнутые повторному скрининговому исследованию не ранее, чем за 35 дней от запланированного участия, могут использовать лабораторные результаты первичного скрининга, снимки компьютерной томографии (КТ)/магнитно-резонансной томографии (МРТ) и снимки костной ткани (если они укладываются в 8 недель от дня 1 цикла 1) для определения пригодности к участию, если эти данные не являются причиной повторного скрининга.

Фаза лечения.

Фаза лечения должна начинаться в день 1 цикла 1 и продолжаться до отмены введения исследуемого лекарственного средства. Последние измерения, сделанные в день 1 цикла 1 до введения исследуемого лекарственного средства или при скрининге (в зависимости от того, что сделано позднее) должны считаться исходными значениями. При отсутствии специальных указаний для визитов в каждом цикле должно быть отведено окно ± 3 дня. Визиты в ходе исследования необходимо отсчитывать от даты дня 1 цикла 1. Для тех визитов, которые требуют получения визуализационных снимков, субъектам можно делать визуализационные снимки в пределах ± 7 дней от визита. Визиты и оценки в ходе фазы лечения описаны в графике проведения мероприятий.

При проведении забора проб на исследования фармакокинетики и фармакодинамики субъект не

должен принимать исследуемое лекарственное средство дома в утро дня визита. Исследуемое лекарственное средство нужно принимать на месте. Подробная информация о днях и времени забора проб для исследования фармакокинетики и фармакодинамики представлена в графике проведения мероприятий. Дополнительная информация о заборе проб для исследования фармакокинетики представлена в секции 9.3. Подробная информация об обращении и процедурах хранения проб для исследования фармакокинетики и фармакодинамики представлена в руководстве по проведению лабораторных анализов.

Клинические обследования и лабораторные исследования при наличии клинических показаний можно проводить чаще. Лечение исследуемым лекарственным средством необходимо продолжать, пока прогрессирование заболевания, неприемлемая токсичность, гибель или спонсор не прервут исследование. После прекращения приема субъектом исследуемого лекарственного средства субъект должен совершить визит в конце курса лечения (End-of-Treatment, EoT) в течение 30 дней после приема последней дозы исследуемого лекарственного средства и перейти в фазу последующего наблюдения.

Визит в конце курса лечения.

Визит в конце курса лечения должен быть запланирован не позднее 30 дней после приема последней дозы исследуемого лекарственного средства или перед введением нового лечения от рака предстательной железы, в зависимости от того, какое событие наступит первым. Если субъект не может вернуться в учреждение для совершения визита EoT, с ним следует связаться и получить данные о нежелательных явлениях (НЯ), произошедших в течение 30 дней после приема последней дозы исследуемого лекарственного средства.

Фаза последующего наблюдения.

После завершения субъектом фазы лечения необходимо выполнять наблюдение за выживаемостью и симптоматическими явлениями в скелете (SSE) каждые 3 месяца путем посещений клиники, телефонного опроса, анализа амбулаторных карт и другими традиционными методами. Случаи гибели независимо от причины и СНЯ, считающиеся связанными с исследуемыми препаратами, необходимо регистрировать и сообщать в течение 24 часов от момента обнаружения или уведомления о событии. Если информация наблюдения получена путем связи по телефону, то необходимо письменное документирование разговора для изучения исходных документов.

Образец, положительный по биомаркерам аномалий репарации ДНК.

В ходе исследования могут быть получены результаты анализа крови, определяющего положительность субъекта по биомаркерам и являющегося более быстрым методом, чем анализ ткани на положительность по биомаркерам, и при этом более удобным для субъектов. До получения результатов анализа по крови требуется анализ опухолевой ткани (архивной или недавно полученной). Чтобы гарантировать наличие у всех субъектов, независимо от времени из входа в исследование, одинаковых доступных для анализа данных по биомаркерам (т. е. для согласования и вспомогательных исследований), у всех субъектов, подписавших форму предварительного согласия (ICF) на предскрининг, необходимо отобрать как образцы опухолевой ткани, так и образцы крови. Процесс определения положительности по биомаркерам должен отличаться для субъектов, вошедших в предскрининговую фазу до получения результатов анализа по крови, и субъектов, вошедших после получения результатов анализа по крови. Однако состояние положительности по биомаркерам как в опухолевой ткани, так и в крови необходимо оценивать у всех субъектов.

Чтобы субъект был признан пригодным для исследования, он должен иметь подтвержденную положительность по биомаркерам, определенную в опухолевой ткани (либо архивной, либо недавно полученной) или в анализе крови, когда он станет доступен. Представляющие интерес для данного исследования биомаркеры и критерии положительности по биомаркерам перечислены в табл. 3. Необходимо выполнять анализы для определения посредника для биаллельной потери (например, частоты совместной экспрессии мутации с потерей числа копий), и эти посредники могут использоваться для определения положительности по биомаркерам, когда такая информация станет доступной.

Таблица 3. Панель биомаркеров и критерии положительности

Гены	Определение	Поражение генома, необходимое для положительности*	
BRCA-1	Ген 1 рака молочной железы (Breast Cancer gene 1)	<ul style="list-style-type: none"> - Гомозиготная делеция - Гетерозиготная делеция+вредная мутация - Нейтральная по числу копий утрата гетерозиготности+вредная мутация 	
BRCA-2	Ген 2 рака молочной железы (Breast Cancer gene 2)		
FANCA	Ген комплементационной группы А анемии Фанкони (Fanconi Anemia Complementation Group A gene)		
PALB2	Ген-партнер и локализатор для BRCA-2 (Partner and Localizer of BRCA2 gene)		
CHEK2	Ген киназы 2 контрольной точки (Checkpoint Kinase 2 gene)		
BRIP1	Ген взаимодействующего с BRCA-1 белка C-концевой геликазы 1 (BRCA1 Interacting Protein C-terminal Helicase 1 gene)		
HDAC2	Ген гистоновой деацетилазы 2 (Histone Deacetylase 2 gene)		
ATM	Мутированный ген телеангиоэктатической атаксии (Ataxia Telangiectasia Mutated gene)		
ATM	Мутированный ген		Моноаллельная вредная мутация
	телеангиоэктатической атаксии (Ataxia Telangiectasia Mutated gene)		в каталитическом домене киназы
Контрольные гены			
AR	Ген андрогенного рецептора (Androgen Receptor gene)		
TP53	Ген опухолевого белка 53 (Tumor Protein 53 gene)		

Для вхождения в исследование приемлемой будет моноаллельная утрата во всех генах, пока не будет утвержден имеющийся алгоритм для биаллельной утраты.

Циркулирующие опухолевые клетки.

Образцы крови собирают в пробирку Cellsave в сроки, указанные в графике проведения мероприятий. Подсчет циркулирующих опухолевых клеток (СТС) проводят в центральной лаборатории с целью оценки ответа на исследуемое лекарственное средство.

Цельная кровь на РНК.

Образцы цельной крови собирают в пробирку Paxgene. В РНК можно определить множество транскриптов рибонуклеиновой кислоты (РНК), обнаруживаемых в опухолях предстательной железы, и анализ таких образцов позволяет оценить потенциальные механизмы резистентности к ниррапарibu, которые могут сформироваться.

Циркулирующая опухолевая ДНК.

Образцы плазмы, полученные в ходе курса лечения, используются для контроля изменений уровней и типов аномалий репарации ДНК, наблюдаемых с течением времени по циркулирующей опухолевой ДНК (цодНК), а также для отслеживания потенциальных маркеров резистентности к ниррапарibu.

Хотя приведенное выше описание содержит сведения о принципах настоящего изобретения с примерами, приведенными с целью иллюстрации, следует понимать, что практическое применение изобретения охватывает все обычные вариации, адаптации и/или модификации, входящие в объем приведенной ниже формулы изобретения и ее эквивалентов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака предстательной железы у человека, нуждающегося в таком лечении, включающий введение человеку безопасного и эффективного количества ниррапарibu или его соли, в котором рак предстательной железы является резистентным к антиандрогенам, и при этом человек является носителем по меньшей мере одной аномалии репарации ДНК, выбранной из группы, состоящей из BRCA-1, BRCA-2, FANCA, PALB2, CHEK2, BRIP1, HDAC2 и ATM.

2. Способ по п.1, в котором рак предстательной железы представляет собой кастрационно-

резистентный рак предстательной железы или метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы.

3. Способ по п.1 или 2, в котором аномалия репарации ДНК представляет собой BRCA-1 или BRCA-2.

4. Способ по любому из пп.1-3, в котором рак предстательной железы представляет собой кастрационно-резистентный рак предстательной железы.

5. Способ по любому из пп.1-3, в котором рак предстательной железы представляет собой метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы.

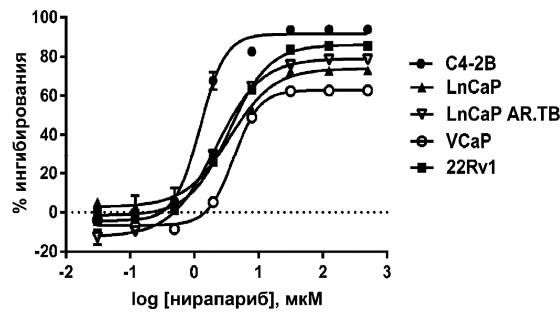
6. Способ по любому из пп.1-5, в котором нирапариб вводят в количестве от около 30 мг/день до около 400 мг/день.

7. Способ по п.6, в котором вводимое количество нирапариба составляет около 300 мг/день.

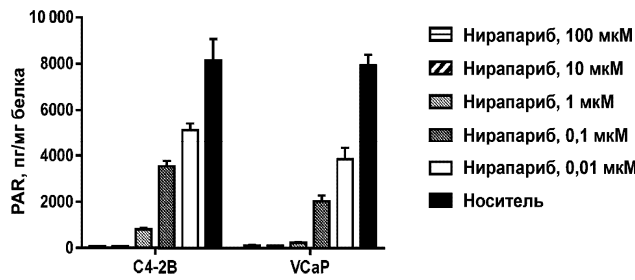
8. Способ по п.7, в котором нирапариб вводят в виде ежедневного однократного перорального введения трех дозированных форм по 100 мг.

9. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором человек прошел по меньшей мере один курс химиотерапии таксаном.

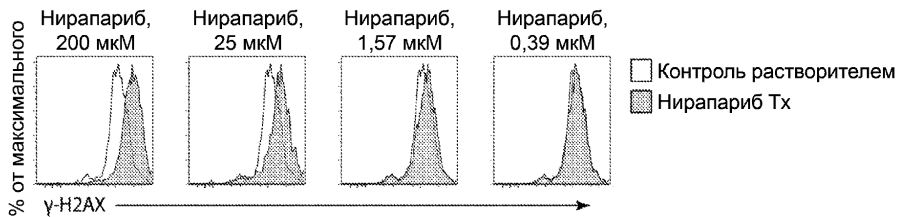
10. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором человек прошел по меньшей мере один курс химиотерапии энзалутамидом, апалутамидом или ацетатом абиратерона.



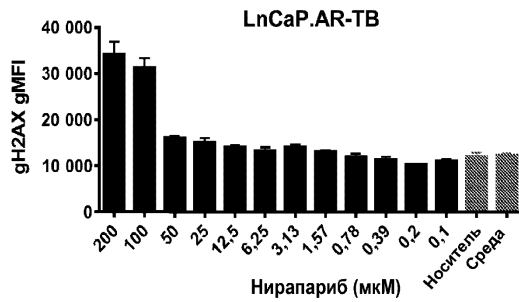
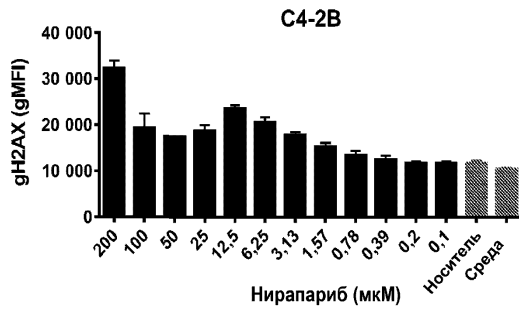
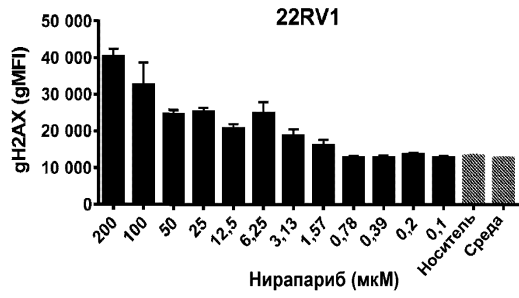
Фиг. 1



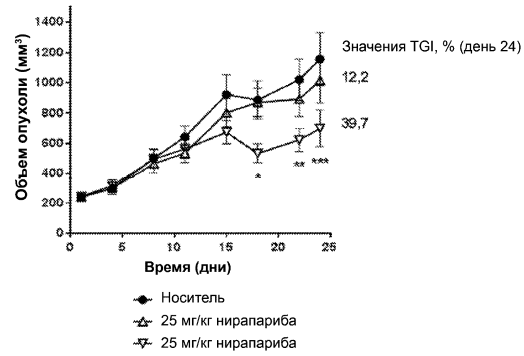
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

