

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202290813** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2022.07.12

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
A61K 31/381 (2006.01)
A61K 31/38 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.09.11

(54) **ЛЕЧЕНИЕ РАКА С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМБИНАЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ ИНГИБИТОР МУЛЬТИТИРОЗИНКИНАЗЫ И ИНГИБИТОР ИММУННЫХ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК**

(31) PCT/CN2019/105418

(72) Изобретатель:
Цзян Бэйбэй, Ян Лю, Чэнь Чэн (CN)

(32) 2019.09.11

(33) CN

(74) Представитель:
Харин А.В., Стойко Г.В., Буре Н.Н.,
Галухина Д.В., Алексеев В.В. (RU)

(86) PCT/CN2020/114703

(87) WO 2021/047623 2021.03.18

(71) Заявитель:

БЕЙДЖИН, ЛТД. (KY)

(57) В изобретении раскрыт способ предотвращения, замедления прогрессирования или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, ингибитора мультитирозинкиназы, N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамида или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с ингибитором иммунных контрольных точек. Также раскрыта фармацевтическая комбинация, содержащая ингибитор мультитирозинкиназы, N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамида или его фармацевтически приемлемую соль в комбинации с ингибитором иммунных контрольных точек, и ее применение.

202290813

A1

A1

202290813

A61K 39/395 (2006.1), A61K 31/38 (2006.1), A61K 31/381 (2006.1),
A61K 35/00 (2006.1)

ЛЕЧЕНИЕ РАКА С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМБИНАЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ ИНГИБИТОР МУЛЬТИТИРОЗИНКИНАЗЫ И ИНГИБИТОР ИММУННЫХ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка испрашивает приоритет по международной патентной заявке № PCT/CN2019/105418, поданной 11 сентября 2019 года, содержание которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки для всех целей.

ОПИСАНИЕ ТЕКСТОВОГО ФАЙЛА, ПРЕДСТАВЛЕННОГО В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ

Содержание текстового файла, представленного в электронном виде, полностью включено в настоящий документ посредством ссылки: машиночитаемая копия Перечня последовательностей (имя файла: L10205-01PCT_SeqList, данные записаны 11 сентября 2020 г.).

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

В настоящем документе раскрыт способ предотвращения, замедления прогрессирования или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, ингибитора мультитирозинкиназы (например, N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамида или его фармацевтически приемлемой соли) в комбинации с ингибитором иммунных контрольных точек. В настоящем документе также раскрыта фармацевтическая комбинация, содержащая ингибитор мультитирозинкиназы (например, N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамида или его фармацевтически приемлемую соль) в комбинации с ингибитором иммунных контрольных точек, и ее применение.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Во время лечения раковые клетки сталкиваются с селективным давлением, и мутации, происходящие в отдельных раковых клетках, представляют собой непрерывную эволюцию исходного рака. У многих злокачественных новообразований развивается резистентность к индивидуальным противоопухолевым терапиям. Это также относится к

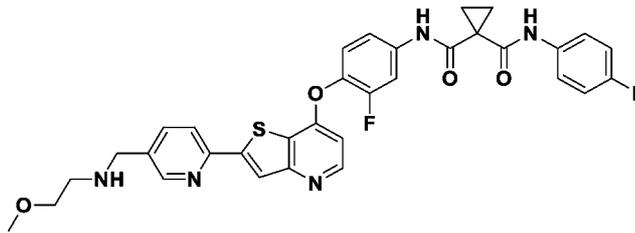
агентам блокады иммунных контрольных точек, когда приобретенная резистентность встречается у большей части получавших лечение пациентов, которые достигли первоначального значимого ответа. Данный феномен приобретенной резистентности помогает раковым клеткам адаптироваться к окружающей среде и выживать после иммунных атак и является напоминанием о терапевтических проблемах, которые необходимо преодолеть [Syn NL, Teng MWL, Mok TSK, et al. De-novo and acquired resistance to immune checkpoint targeting. *Lancet Oncol.* 2017;18(12): e731–41.].

Моноклональные антитела, которые нацелены либо на PD-1 (белок программируемой клеточной смерти 1), либо на PD-L1 (лиганд белка программируемой клеточной смерти 1), могут блокировать это взаимодействие и усиливать иммунный ответ против раковых клеток. Было показано, что эти антитела полезны при лечении нескольких видов рака, включая меланому кожи, немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), рак почки, рак мочевого пузыря, рак головы и шеи и лимфому Ходжкина. Раковые клетки у большинства пациентов, не отвечающих на одноагентные ингибиторы контрольных точек, ускользают благодаря врожденным механизмам, позволяющим раковым клеткам расти и выживать. В результате заболевание прогрессирует со скоростью, соответствующей естественному течению. Однако в отличие от внутренней резистентности, поздние рецидивы в настоящее время возникают у пациентов с предшествующим положительным клиническим эффектом после более длительного последующего наблюдения по завершении клинических испытаний, что предполагает возникновение приобретенной резистентности [Jenkins RW, Barbie DA, and Flaherty KT. Mechanisms of resistance to immune checkpoint inhibitors. *Br J Cancer.* 2018;118(1):9-16]. Для повышения клинической эффективности ингибиторов контрольных точек необходимы стратегии преодоления врожденной или приобретенной резистентности.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В международной публикации № WO2009/026717A раскрыты соединения, обладающие ингибирующей активностью в отношении множества белковых тирозинкиназ, например, ингибирующей активностью в отношении киназы рецептора VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) и киназы рецептора HGF (фактор роста гепатоцитов). В частности, в настоящем документе раскрыт N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамид (Соединение 1), который представляет собой ингибитор мультитирозинкиназы, демонстрирующий эффективное ингибирование тесно связанного спектра тирозинкиназ, включая RET, CBL, CHR4q12, DDR и Trk, которые

являются ключевыми регуляторами сигнальных путей, приводящих к клеточному росту, выживанию и прогрессированию опухоли.



Соединение 1

Авторы настоящей заявки обнаружили, что комбинация ингибитора мультитирозинкиназы (например, вышеупомянутого Соединения 1) с ингибитором иммунных контрольных точек (например, антителом Mab-1 к PD-1 согласно настоящему изобретению) вызывает значительное ингибирование роста опухоли при раковых заболеваниях по сравнению с монотерапией каждым из вышеуказанных активных фармацевтических агентов отдельно. Комбинированное лечение Mab-1 и Соединением 1 является многообещающим, обладая противоопухолевой активностью у пациентов с различными раковыми заболеваниями, включая рак яичников.

В первом аспекте настоящего документа раскрыт способ предотвращения, замедления прогрессирования или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества ингибитора мультитирозинкиназы (например, N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамида, или его стереоизомера, или его фармацевтически приемлемой соли) в комбинации с терапевтически эффективным количеством ингибитора иммунных контрольных точек.

Во втором аспекте настоящего документа раскрыта фармацевтическая комбинация для применения для предотвращения, замедления прогрессирования или лечения рака, содержащая ингибитор мультитирозинкиназы (например, N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамид, или его стереоизомер, или его фармацевтически приемлемую соль) в комбинации с ингибитором иммунных контрольных точек.

В третьем аспекте настоящего документа раскрыт ингибитор мультитирозинкиназы (например, N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-

фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамида, или его стереоизомер, или его фармацевтически приемлемая соль) для применения для предотвращения, замедления прогрессирования или лечения рака в комбинации с ингибитором иммунных контрольных точек. В одном варианте осуществления этого аспекта в настоящем документе раскрыт ингибитор иммунных контрольных точек для применения для предотвращения, замедления прогрессирования или лечения рака в комбинации с ингибитором мультитирозинкиназы (например, N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамидом, или его стереоизомером, или его фармацевтически приемлемой солью).

В четвертом аспекте настоящего документа раскрыто применение фармацевтической комбинации в производстве лекарственного средства для применения для предотвращения, замедления прогрессирования или лечения рака, причем указанная фармацевтическая комбинация содержит ингибитор мультитирозинкиназы (например, N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамида, или его стереоизомер, или его фармацевтически приемлемую соль) и ингибитор иммунных контрольных точек.

В пятом аспекте настоящего документа раскрыто готовое изделие или “набор”, включающий первый контейнер, второй контейнер и лист-вкладыш, где первый контейнер содержит по меньшей мере одну дозу лекарственного средства, содержащего ингибитор мультитирозинкиназы (например, N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамида, или его стереоизомер, или его фармацевтически приемлемую соль), второй контейнер содержит по меньшей мере одну дозу лекарственного средства, содержащего ингибитор иммунных контрольных точек, и лист-вкладыш содержит инструкции по лечению рака у субъекта, применяющего лекарственные средства.

Способ и фармацевтическая комбинация, раскрытые в настоящем документе, в виде комбинированной терапии значительно более эффективны, чем введение одного из терапевтических средств.

В варианте осуществления каждого из пяти вышеуказанных аспектов ингибитор иммунных контрольных точек представляет собой моноклональное антитело. В варианте осуществления каждого из пяти вышеуказанных аспектов ингибитор иммунных контрольных точек представляет собой антитело к PD-1.

В варианте осуществления каждого из пяти вышеуказанных аспектов рак выбран из рака легкого, включая немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), рака яичников (РЯ), почечно-клеточного рака (ПКР) или меланомы.

В варианте осуществления каждого из пяти вышеуказанных аспектов рак или опухоль являются резистентными или рефрактерными к ингибитору контрольных точек, выбранному из антитела к PD-1 или антитела к PD-L1.

В варианте осуществления настоящего изобретения рак представляет собой экспрессирующий PD-L1.

В варианте осуществления настоящего изобретения рак выбран по его стадии, включая местно-распространенный, рецидивирующий или метастатический.

В варианте осуществления настоящего изобретения рак представляет собой неплоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), эпителиальный рак яичников (РЯ), почечно-клеточный рак (ПКР) или меланому.

В варианте осуществления настоящего изобретения неплоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) представляет собой: рефрактерный/резистентный к антителу к PD-1/PD-L1 метастатический неплоскоклеточный НМРЛ; ранее не получавший лечения антителом к PD-1/PD-L1 метастатический неплоскоклеточный НМРЛ или PD-L1-положительный местно-распространенный или метастатический неплоскоклеточный НМРЛ без предварительного системного лечения метастатических форм.

В варианте осуществления настоящего изобретения плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) представляет собой: рефрактерный/резистентный к антителу к PD-1/PD-L1 метастатический плоскоклеточный НМРЛ; ранее не получавший лечения антителом к PD-1/PD-L1 метастатический плоскоклеточный НМРЛ или PD-L1-положительный местно-распространенный или метастатический плоскоклеточный НМРЛ без предварительного системного лечения метастатических форм.

В варианте осуществления настоящего изобретения почечно-клеточный рак (ПКР) представляет собой рефрактерный/резистентный к антителу к PD-1/PD-L1 метастатический или распространенный ПКР, или метастатический или распространенный ПКР без предварительного системного лечения.

В варианте осуществления настоящего изобретения меланома представляет собой рефрактерную/резистентную к антителу к PD-1/PD-L1 неоперабельную или метастатическую меланому.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения рак яичников (РЯ) представляет собой ранее не получавший лечения рецидивирующий и платино-резистентный эпителиальный РЯ.

В варианте осуществления каждого из пяти вышеуказанных аспектов ингибитор иммунных контрольных точек представляет собой антагонист PD-1, который представляет собой антитело (Mab-1), содержащее переменную область тяжелой цепи (Vh), и переменную область легкой цепи (Vk), и эффекторный или константный домен тяжелой цепи IgG4, содержащий SEQ ID NO: 88, где переменная область тяжелой цепи (Vh) и переменная область легкой цепи (Vk) содержат SEQ ID NO: 24 и SEQ ID NO: 26, соответственно.

В варианте осуществления каждого из пяти вышеуказанных аспектов ингибитор мультитирозинкиназы представляет собой N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамид (Соединение 1). В одном варианте осуществления Соединение 1 находится в кристаллической форме D. В другом варианте осуществления кристаллическая форма D имеет дифрактограмму XRPD (порошковая рентгеновская дифрактометрия) по существу такую, как представлено на Фигуре 1А.

В варианте осуществления каждого из пяти вышеуказанных аспектов ингибитор мультитирозинкиназы и ингибитор иммунных контрольных точек вводят одновременно, последовательно или периодически.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На Фигуре 1А показана дифрактограмма порошковой рентгеновской дифрактометрии (XRPD) кристаллической формы D Соединения 1 (Соединение 1 форма D).

На Фигуре 2А показана комбинированная эффективность Mab-1 и Соединения 1 на аллогенной мышью модели А431 (* указывает, что P меньше 0,05).

На Фигуре 2В показана комбинированная эффективность miCh15mt и Соединения 1 на сингенной мышью модели СТ26WT (***) указывает, что P меньше 0,001).

На Фигуре 2С показана комбинированная эффективность miCh15mt и Соединения 1 на сингенной мышью модели МС38 (****) указывает, что P меньше 0,0001).

На Фигуре 2D показана комбинированная эффективность miCh15mt и Соединения 1 на сингенной мышью модели А20 (* указывает, что P меньше 0,05).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

Определения

Если иное не определено конкретно в настоящем документе, все другие технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют значение, обычно понятное специалисту в области техники, к которой относится настоящее изобретение.

В контексте настоящего документа, включая прилагаемую формулу изобретения, формы единственного числа слов включают соответствующие им множественные формы, если из контекста явно не следует иное.

Термин “или” используется для обозначения и используется взаимозаменяемо с термином “и/или”, если из контекста явно не следует иное.

В настоящем описании и в последующей формуле изобретения, если из контекста не следует иное, слово “содержать” и варианты, такие как “содержит” и “содержащий”, следует понимать как подразумевающие включение активного агента (например, mAb или ингибитора мультитирозинкиназы) или указанной аминокислотной последовательности, но не исключение любого другого активного ингредиента или аминокислотной последовательности.

Термин “фармацевтически приемлемые соли” относится к таким солям, которые в рамках медицинской точки зрения подходят для применения в контакте с тканями людей и низших животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции и т. п., и имеют разумное соотношение пользы/риска. Он включает, но не ограничивается ими, соли с неорганическими кислотами, выбранными, например, из гидрохлоратов, фосфатов, дифосфатов, гидроброматов, сульфатов, сульфидов и нитратов; а также соли с органическими кислотами, выбранными, например, из фумаратов, лактатов, метансульфонатов, *p*-толуолсульфонатов, 2-гидроксиэтилсульфонатов, бензоатов, салицилатов, стеаратов, алканоатов, таких как ацетат, и соли с $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, где *n* выбран из значений от 0 до 4. Аналогичным образом, примеры фармацевтически приемлемых катионов включают, но не ограничиваются ими, натрий, калий, кальций, алюминий, литий и аммоний.

Кроме того, если соединение получают в виде соли присоединения кислоты, свободное основание может быть получено путем подщелачивания раствора кислой соли. И наоборот, если продукт представляет собой свободное основание, то соль присоединения, например, фармацевтически приемлемая соль присоединения, может быть получена путем растворения свободного основания в подходящем органическом растворителе и обработки раствора кислотой в соответствии с обычными способами получения солей присоединения кислоты из основных соединений. Специалистам в

данной области будет понятно, что различные способы синтеза могут быть использованы для получения нетоксичных фармацевтически приемлемых солей присоединения без проведения излишних экспериментов.

Как определено в настоящем документе, термин “его фармацевтически приемлемая соль” включает соли Соединения 1 и соли стереоизомеров Соединения 1, например, соли энантиомеров и/или соли диастереомеров.

Термин “эффективное количество” относится к количеству по меньшей мере одного Соединения 1, и/или по меньшей мере одного его стереоизомера, и/или по меньшей мере одной его фармацевтически приемлемой соли, эффективному для “лечения” заболевания или расстройства у субъекта, и которое будет вызывать, в некоторой значительной степени, искомый биологический или терапевтический ответ ткани, системы, животного или человека, например, при введении; является достаточным для предотвращения развития или облегчения в некоторой степени одного или более симптомов состояния или расстройства, подлежащего лечению. Терапевтически эффективное количество будет варьироваться в зависимости от соединения, заболевания и его тяжести, а также возраста, веса и т. д. млекопитающего, подлежащего лечению.

Термин “по меньшей мере один заместитель” включает, например, от 1 до 4, например, от 1 до 3, дополнительно, например, 1 или 2 заместителя. Например, в настоящем документе “по меньшей мере один заместитель R¹⁶” включает от 1 до 4, например, от 1 до 3, дополнительно, например, 1 или 2 заместителя, выбранные из списка R¹⁶, как описано в настоящем документе.

В настоящем документе термин “антитело” используется в самом широком смысле и конкретнее охватывает антитела (включая полноразмерные моноклональные антитела) и фрагменты антител при условии, что они распознают антиген, такой как иммунная контрольная точка (например, PD-1). Молекула антитела обычно является моноспецифической, но также может быть описана как идиоспецифическая, гетероспецифическая или полиспецифическая. Молекулы антител связываются посредством специфических сайтов связывания со специфическими антигенными детерминантами или эпитопами на антигенах.

В настоящем документе термин “моноклональное антитело”, или “mAb”, или “Mab” означает популяцию по существу однородных антител, т. е. молекулы антител, содержащиеся в популяции, идентичны по аминокислотной последовательности, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Напротив, обычные (поликлональные) препараты антител обычно включают множество различных антител, имеющих разные

аминокислотные последовательности в своих переменных доменах, в частности их CDR, которые часто специфичны для различных эпитопов. Определение “моноклональное” указывает, что антитело получено из по существу однородной популяции антител, и его не следует интерпретировать, как требующее продукции антитела с помощью какого-либо конкретного способа. Моноклональные антитела (mAb) могут быть получены способами, известными специалистам в данной области техники. См., например, Патент US № 4376110. Раскрытые в настоящем документе mAb могут быть любого класса иммуноглобулинов, включая IgG, IgM, IgD, IgE, IgA, и любого их подкласса. Гибридому, продуцирующую mAb, можно культивировать *in vitro* или *in vivo*. Высокие титры mAb могут быть получены при продукции *in vivo*, когда клетки из отдельных гибридом вводят при помощи инъекции внутривенно мышам, таким как примированные пристином мыши линии Balb/c, с получением асцитной жидкости, содержащей высокие концентрации желаемых mAb. MAb изотипа IgM или IgG могут быть очищены от таких асцитных жидкостей или от супернатантов культур с помощью способов колоночной хроматографии, хорошо известных специалистам в данной области техники.

В общем, основная структурная единица антитела содержит тетрамер. Каждый тетрамер включает две идентичных пары полипептидных цепей, каждая пара имеет одну “легкую цепь” (около 25 кДа) и одну “тяжелую цепь” (около 50-70 кДа). Амино-концевая часть каждой цепи включает переменную область от около 100 до 110 или более аминокислот, главным образом ответственных за распознавание антигена. Карбокси-концевая часть тяжелой цепи может определять константную область, главным образом ответственную за эффекторную функцию. Обычно легкие цепи человека классифицируют как легкие цепи каппа и лямбда. Кроме того, тяжелые цепи человека обычно классифицируют как α , δ , ϵ , γ или μ и изотипы антитела определяют как IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, соответственно. В легкой и тяжелой цепях переменная и константная области соединены областью “J” около 12 или более аминокислот, причем тяжелая цепь также содержит область “D” еще около 10 аминокислот.

Переменные области каждой пары легкая/тяжелая цепь (V_L/V_H) образуют сайт связывания антитела. Таким образом, обычно интактное антитело имеет два сайта связывания. За исключением бифункциональных или биспецифических антител, обычно два сайта связывания являются одинаковыми.

Как правило, переменные домены как тяжелой, так и легкой цепей содержат три гиперпеременные области, также называемые “определяющими комплементарность областями (CDR)”, которые расположены между относительно консервативными каркасными областями (FR). CDR обычно выравниваются каркасными областями, что

позволяет связываться со специфическим эпитопом. Обычно от N-конца до C-конца переменные домены как легкой, так и тяжелой цепи содержат FR-1 (или FR1), CDR-1 (или CDR1), FR-2 (FR2), CDR-2 (CDR2), FR-3 (или FR3), CDR-3 (CDR3) и FR-4 (или FR4). Отнесение аминокислот к каждому домену обычно соответствует определениям последовательностей белков, представляющих иммунологический интерес, Kabat, et al., National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) Adv. Prot. Chem. 32: 1-75; Kabat, et al., (1977) J. Biol. Chem. 252:6609-6616; Chothia, et al., (1987) J Mol. Biol. 196:901-917 or Chothia, et al., (1989) Nature 342:878-883.

Термин “гипервариабельная область” означает аминокислотные остатки антитела, отвечающие за связывание антигена. Гипервариабельная область содержит аминокислотные остатки из “определяющей комплементарности области” или “CDR” (т. е. CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 в переменной домене легкой цепи и CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 в переменной домене тяжелой цепи). См., Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (определяющая области CDR антитела с помощью последовательности); также см. статью Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917 (определяющая области CDR антитела с помощью структуры). Термин “каркас” или “FR” означает остатки переменной домена, отличные от остатков гипервариабельной области, определенных в настоящем документе как остатки CDR.

Если не указано иное, термин “фрагмент антитела” или “антигенсвязывающий фрагмент” означает антигенсвязывающие фрагменты антител, т. е. фрагменты антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном, связанным полноразмерным антителом, например, фрагменты, которые сохраняют одну или более областей CDR. Примеры антигенсвязывающих фрагментов включают, но не ограничиваются ими, фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv; димеры; линейные антитела; молекулы одноцепочечных антител, например, одноцепочечный Fv (ScFv); нанотела и полиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

Антитело, которое “специфически связывается со” специфическим белком-мишенью, представляет собой антитело, которое демонстрирует предпочтительное связывание с этой мишенью по сравнению с другими белками, но эта специфичность не требует абсолютной специфичности связывания. Антитело считается “специфичным” в отношении его предполагаемой мишени, если его связывание определяется присутствием белка-мишени в образце, например без получения нежелательных результатов, таких как ложноположительные результаты. Антитела или их связывающие фрагменты, пригодные для настоящего изобретения, будут связываться с белком-мишенью с аффинностью,

которая по меньшей мере в два раза больше, предпочтительно по меньшей мере в десять раз больше, более предпочтительно по меньшей мере в 20 раз больше и наиболее предпочтительно по меньшей мере в 100 раз больше, чем аффинность к белкам, не являющимся мишенями. В настоящем документе считается, что антитело специфически связывается с полипептидом, содержащим данную аминокислотную последовательность, например, аминокислотную последовательность зрелой молекулы PD-1 человека, если оно связывается с полипептидами, содержащими эту последовательность, но не связывается с белками, не имеющими этой последовательности.

В настоящем документе термин “человеческое антитело” означает антитело, которое содержит только последовательности белка иммуноглобулина человека. Человеческое антитело может содержать углеводные цепи грызуна, если оно продуцируется в мышцах, в клетке грызуна или в гибридоме, полученной из клетки мышца. Аналогичным образом, термин “мышинное антитело” или “крысиное антитело” означает антитело, которое содержит только последовательности белка иммуноглобулина мышца или крысы, соответственно.

Термин “гуманизованное антитело” означает формы антител, которые содержат последовательности нечеловеческих (например, мышинных) антител, а также человеческих антител. Такие антитела содержат минимальную последовательность, полученную из нечеловеческого иммуноглобулина. Обычно гуманизованное антитело будет содержать по существу все из по меньшей мере одного, а обычно двух переменных доменов, в которых все или по существу все гипервариабельные петли соответствуют таким петлям нечеловеческого иммуноглобулина, и все или по существу все FR области соответствуют таким областям последовательности человеческого иммуноглобулина. Гуманизованное антитело необязательно также будет содержать по меньшей мере часть константной области (Fc) иммуноглобулина, обычно иммуноглобулина человека. Приставка “hum”, “hu”, “Hu” или “h” добавляется к обозначениям клонов антител, когда необходимо отличить гуманизованные антитела от родительских антител грызунов. Гуманизованные формы антител грызунов обычно содержат такие же последовательности CDR родительских антител грызунов, хотя некоторые аминокислотные замены могут быть включены для увеличения аффинности, повышения стабильности гуманизованного антитела или по другим причинам.

Термин “диастереомеры” относится к стереоизомерам соединения с двумя или более хиральными центрами, но которые не являются зеркальными отражениями друг друга. Диастереомерные смеси могут быть разделены на их отдельные диастереомеры на основании их физико-химических различий с помощью способов, хорошо известных

специалистам в данной области техники, таких как хроматография и/или фракционная кристаллизация. Энантиомеры могут быть разделены путем преобразования энантиомерной смеси в диастереомерную смесь с помощью реакции с соответствующим оптически активным соединением (например, хиральным вспомогательным веществом, таким как хиральный спирт или хлорангидрид кислоты Мошера), разделения диастереомеров и преобразования (например, гидролизом) отдельных диастереоизомеров в соответствующие чистые энантиомеры. Энантиомеры также могут быть разделены с помощью хиральной ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) колонки.

Отдельный стереоизомер, например, по существу чистый энантиомер, может быть получен путем разделения рацемической смеси с помощью способа, такого как образование диастереомеров с помощью оптически активных разделяющих агентов [Eliel, E. and Wilen, S. *Stereochemistry of Organic Compounds*. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1994; Lochmuller, C. H., et al. "Chromatographic resolution of enantiomers: Selective review." *J. Chromatogr.*, 113(3) (1975): pp. 283-302]. Рацемические смеси хиральных соединений по настоящему изобретению могут быть разделены и выделены любым подходящим способом, включая: (1) образование ионных, диастереомерных солей с хиральными соединениями и разделение путем фракционной кристаллизации или другими способами, (2) образование диастереомерных соединений с хиральными дериватизирующими реагентами, разделение диастереомеров и преобразование в чистые стереоизомеры, и (3) разделение по существу чистых или обогащенных стереоизомеров непосредственно в хиральных условиях. См.: Wainer, Irving W., Ed. *Drug Stereochemistry: Analytical Methods and Pharmacology*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1993.

В настоящем документе термины "введение", "лечение" и "обработка", когда они применяются к животному, человеку, экспериментальному субъекту, клетке, ткани, органу или биологической жидкости, означают контакт экзогенного фармацевтического, терапевтического, диагностического агента или композиции с животным, человеком, субъектом, клеткой, тканью, органом или биологической жидкостью. Обработка клетки включает контакт реагента с клеткой, а также контакт реагента с жидкостью, причем жидкость находится в контакте с клеткой. Термин "обработка" и "лечение" также означает обработку *in vitro* и *ex vivo*, например, клетки, реагентом, диагностическим, связывающим соединением или другой клеткой. В настоящем документе термин "субъект" включает любой организм, предпочтительно животное, более предпочтительно млекопитающее (например, крысу, мышь, собаку, кошку, кролика) и наиболее предпочтительно человека.

Фраза “снижение вероятности” относится к задержке начала, или развития, или прогрессирования заболевания, инфекции или расстройства.

Термин “терапевтически приемлемое количество” или “терапевтически эффективная доза” взаимозаменяемо относится к количеству, достаточному для достижения желаемого результата (т. е., уменьшение размера опухоли, ингибирование роста опухоли, предотвращение метастазирования, ингибирование или предотвращение вирусной, бактериальной, грибковой или паразитарной инфекции). В некоторых аспектах терапевтически приемлемое количество не вызывает или не оказывает нежелательных побочных эффектов. Терапевтически приемлемое количество можно определить путем введения сначала низкой дозы, а затем постепенного увеличения этой дозы до достижения желаемого эффекта. “Профилактически эффективная доза” и “терапевтически эффективная доза” молекул по настоящему изобретению могут предотвращать возникновение или приводить к снижению тяжести, соответственно, симптомов заболевания, включая симптомы, связанные с полиомной вирусной инфекцией.

Термин “совместное введение” относится к одновременному присутствию двух активных агентов в крови индивидуума. Активные агенты, которые вводят совместно, могут быть введены параллельно или последовательно.

Термин “эффективное количество” относится к количеству по меньшей мере одного Соединения 1, и/или по меньшей мере одного его стереоизомера, и/или по меньшей мере одной его фармацевтически приемлемой соли, эффективному для “лечения” заболевания или расстройства у субъекта, и которое будет вызывать, в некоторой значительной степени, искомый биологический или терапевтический ответ ткани, системы, животного или человека, например, при введении, количество является достаточным для предотвращения развития или облегчения до некоторой степени одного или более симптомов состояния или расстройства, подлежащего лечению. Терапевтически эффективное количество будет варьироваться в зависимости от соединения, заболевания и его тяжести, а также возраста, веса и т. д. млекопитающего, подлежащего лечению.

В настоящем документе термины “рак” или “опухоль” означают или описывают физиологическое состояние, включающее аномальный рост клеток с возможностью инвазии или распространения на другие части тела.

В контексте настоящего документа термин “резистентный”, “резистентный рак” или “рефрактерный” относится к состоянию, когда рак демонстрирует пониженную чувствительность к терапевтическому средству. Например, при резистентном раке меньшее количество раковых клеток элиминируется концентрацией терапевтического средства, применяемого для элиминации раковых клеток чувствительного рака того же

типа. Рак может быть резистентным в начале терапевтического лечения или он может стать резистентным во время лечения. Резистентность может быть обусловлена несколькими механизмами, например, но не ограничиваясь ими, изменениями мишеней лекарственного средства, снижением накопления лекарственного средства, изменением внутриклеточного распределения лекарственного средства, снижением взаимодействия между лекарственным средством и мишенью, усилением детоксикационного ответа, дерегулированием клеточного цикла, увеличением восстановления поврежденной ДНК и снижением апоптотического ответа. Несколько из указанных механизмов могут происходить одновременно и/или влиять друг на друга.

Термин “заболевание” относится к любому заболеванию, дискомфорту, болезни, симптомам или показаниям и может быть заменен термином “расстройство” или “состояние”.

В контексте настоящего документа термин “фармацевтическая комбинация” относится либо к фиксированной комбинации в одной единичной лекарственной форме, либо к нефиксированной комбинации, либо к набору частей для комбинированного введения, причем два или более терапевтических агента могут быть введены независимо в одно и то же время или по отдельности в течение временных интервалов, особенно когда эти временные интервалы позволяют партнерам по комбинации проявлять кооперативный, например, синергетический эффект.

Термин “комбинированная терапия” или “комбинированное лечение” относится к введению двух или более терапевтических агентов для лечения рака или последствия рака, как описано в настоящем изобретении. Такое введение включает совместное введение этих терапевтических агентов по существу одновременно, например, в одной капсуле, имеющей фиксированное соотношение активных ингредиентов. Альтернативно такое введение включает совместное введение в нескольких или в отдельных контейнерах (например, капсулах, порошках и жидкостях) каждого активного ингредиента. Порошки и/или жидкости перед введением могут быть восстановлены или разведены до желаемой дозы. Кроме того, такое введение также включает последовательное применение каждого типа терапевтического агента либо приблизительно в одно и то же время, либо в разное время. В обоих случаях, схема лечения обеспечит благоприятные эффекты терапевтической комбинации при лечении состояний или расстройств, описанных в настоящем документе.

Если иное конкретно не определено в настоящем документе, все другие технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют значение,

обычно понятное специалисту в области техники, к которой относится настоящее изобретение.

Комбинированная терапия может обеспечить “синергию” и доказать “синергетический эффект”, т. е. когда эффект, достигаемый при применении активных ингредиентов вместе, больше, чем сумма эффектов в результате применения соединений по отдельности. Синергетический эффект может быть достигнут, когда активные ингредиенты: (1) совместно составляют и вводят или доставляют одновременно в комбинированном единичном лекарственном составе; (2) доставляют путем чередования или параллельно в виде отдельных составов; или (3) доставляют по какой-то другой схеме. В терапии с чередованием при доставке синергетический эффект может быть достигнут, когда соединения вводят или доставляют последовательно, например, различными инъекциями в отдельных шприцах. Обычно во время терапии с чередованием эффективную дозу каждого активного ингредиента вводят последовательно, т. е. сериями, тогда как в комбинированной терапии эффективные дозы двух или более активных ингредиентов вводят вместе.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ингибитор мультитирозинкиназы вводят совместно с антагонистом PD-1. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антагонист PD-1 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

Антагонист PD-1

PD-1 представляет собой белок иммунных контрольных точек, который ограничивает активность Т-клеток в периферических тканях во время воспалительного ответа на инфекцию и ограничивает аутоиммунную блокаду PD-1 *in vitro*, усиливает пролиферацию Т-клеток и выработку цитокинов в ответ на вызов специфическими антигенами-мишенями или аллогенными клетками в реакциях смешанных лимфоцитов. Сильная корреляция между экспрессией PD-1 и ответом была показана блокадой PD-1 (Pardoll, Nature Reviews Cancer, 12: 252-264, 2012). Блокада PD-1 может быть осуществлена с помощью различных механизмов, включая антитела, которые связывают PD-1 или его лиганды.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ингибитор иммунных контрольных точек представляет собой антагонист PD-1, который является моноклональным антителом или его фрагментом, раскрытым в документе WO 2015/035606 A1. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ингибитор иммунных контрольных точек представляет собой антитело к PD-1.

Предпочтительно моноклональное антитело к PD-1 представляет собой антитело, которое содержит переменную область тяжелой цепи (Vh) и переменную область легкой цепи (Vl), которые содержат определяющие комплементарность области (CDR), перечисленные в таблице 1.

Таблица 1

a) mu317	CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 11, 12, 13, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 14, 15, 16, соответственно);
b) mu326	CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 17, 18, 19, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 20, 21, 22, соответственно);
c) 317-4B6	CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 31, 32, 33, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 34, 35, 36, соответственно);
d) 326-4A3	CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 37, 38, 39, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 40, 41, 42, соответственно);
e) 317-1H	CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 11, 59, 13, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 14, 15, 16, соответственно);
f) 317-4B2	CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 11, 60, 13, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 61, 15, 16, соответственно);
g) 317-4B5	CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 11, 60, 13, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 61, 15, 16, соответственно);
h) 317-4B6	CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 11, 32, 13, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 61, 15, 16, соответственно);
i) 326-1	CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 17, 62, 19, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 20, 21, 22, соответственно);
j) 326-3B1	CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 17, 62, 19, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 20, 21, 22, соответственно);
или k) 326-3G1	CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 17, 62, 19, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 20, 21, 22, соответственно).

Предпочтительно моноклональное антитело к PD-1 представляет собой антитело, которое содержит переменную область тяжелой цепи (Vh) и переменную область легкой цепи (Vl), которые содержат любые комбинации CDR, перечисленные в таблице 2.

Таблица 2

(a)	CDR-H1 (SEQ ID NO: 31), CDR-H2 (SEQ ID NO: 12, 32, 59 или 60) и CDR-H3 (SEQ ID NO: 33), CDR-L1 (SEQ ID NO: 14, 34 или 61), CDR-L2 (SEQ ID NO: 35) и CDR-L3 (SEQ ID NO: 36); или
(b)	CDR-H1 (SEQ ID NO: 37), CDR-H2 (SEQ ID NO: 18, 38 или 62) и CDR-H3 (SEQ ID NO: 39), CDR-L1 (SEQ ID NO: 40), CDR-L2 (SEQ ID NO: 41) и CDR-L3 (SEQ ID NO: 42).

Предпочтительно моноклональное антитело к PD-1 представляет собой антитело, которое содержит переменную область тяжелой цепи (Vh) и переменную область легкой цепи (Vl), перечисленные ниже в таблице 3.

Таблица 3

a) mu317 (SEQ ID NO: 4 и 6, соответственно);	p) 317-3H1 (SEQ ID NO: 69 и 26, соответственно);
b) mu326 (SEQ ID NO: 8 и 10, соответственно);	q) 317-3I1 (SEQ ID NO: 70 и 26, соответственно);
c) 317-4B6 (SEQ ID NO: 24 и 26, соответственно);	
d) 326-4A3 (SEQ ID NO: 28 и 30, соответственно);	r) 317-4B1 (SEQ ID NO: 71 и 26, соответственно);
e) 317-4B2 (SEQ ID NO: 43 и 44, соответственно);	s) 317-4B3 (SEQ ID NO: 72 и 26, соответственно);
f) 317-4B5 (SEQ ID NO: 45 и 46, соответственно);	t) 317-4B4 (SEQ ID NO: 73 и 26, соответственно);
g) 317-1 (SEQ ID NO: 48 и 50, соответственно);	u) 317-4A2 (SEQ ID NO: 74 и 26, соответственно);
h) 326-3B1 (SEQ ID NO: 51 и 52, соответственно);	v) 326-3A1 (SEQ ID NO: 75 и 30, соответственно);
i) 326-3GI (SEQ ID NO: 53 и 54, соответственно);	w) 326-3C1 (SEQ ID NO: 76 и 30, соответственно);

соответственно);	соответственно);
j) 326-1 (SEQ ID NO: 56 и 58, соответственно);	x) 326-3D1 (SEQ ID NO: 77 и 30, соответственно);
k) 317-3A1 (SEQ ID NO: 64 и 26, соответственно);	y) 326-3E1 (SEQ ID NO: 78 и 30, соответственно);
l) 317-3C1 (SEQ ID NO: 65 и 26, соответственно);	z) 326-3F1 (SEQ ID NO: 79 и 30, соответственно);
m) 317-3E1 (SEQ ID NO: 66 и 26, соответственно);	aa) 326-3B N55D (SEQ ID NO: 80 и 30, соответственно);
n) 317-3F1 (SEQ ID NO: 67 и 26, соответственно);	ab) 326-4A1 (SEQ ID NO: 28 и 81, соответственно) или
o) 317-3G1 (SEQ ID NO: 68 и 26, соответственно);	ac) 326-4A2 (SEQ ID NO: 28 и 82, соответственно).

Предпочтительно моноклональное антитело к PD-1 представляет собой антитело, которое содержит эффекторный или константный домен тяжелой цепи IgG4, содержащий любую из SEQ ID NO: 83-88.

Предпочтительно моноклональное антитело к PD-1 представляет собой антитело, которое содержит F(ab) или F(ab)₂, содержащий указанный выше домен, включая переменную область тяжелой цепи (Vh), переменную область легкой цепи (Vl) и эффекторный или константный домен тяжелой цепи IgG4.

Предпочтительно моноклональное антитело к PD-1 представляет собой антитело, которое содержит переменную область тяжелой цепи (Vh), и переменную область легкой цепи (Vl), и эффекторный или константный домен тяжелой цепи IgG4, содержащий SEQ ID NO: 87 или 88, где переменная область тяжелой цепи (Vh) и переменная область легкой цепи (Vl) представлены в таблице 4.

Таблица 4

a) mu317 (SEQ ID NO: 4 и 6, соответственно);	p) 317-3H1 (SEQ ID NO: 69 и 26, соответственно);
b) mu326 (SEQ ID NO: 8 и 10, соответственно);	q) 317-3I1 (SEQ ID NO: 70 и 26, соответственно);

соответственно);	соответственно);
с) 317-4B6 (SEQ ID NO: 24 и 26, соответственно);	
d) 326-4A3 (SEQ ID NO: 28 и 30, соответственно);	г) 317-4B1 (SEQ ID NO: 71 и 26, соответственно);
e) 317-4B2 (SEQ ID NO: 43 и 44, соответственно);	с) 317-4B3 (SEQ ID NO: 72 и 26, соответственно);
f) 317-4B5 (SEQ ID NO: 45 и 46, соответственно);	т) 317-4B4 (SEQ ID NO: 73 и 26, соответственно);
g) 317-1 (SEQ ID NO: 48 и 50, соответственно);	и) 317-4A2 (SEQ ID NO: 74 и 26, соответственно);
h) 326-3B1 (SEQ ID NO: 51 и 52, соответственно);	v) 326-3A1 (SEQ ID NO: 75 и 30, соответственно);
i) 326-3GI (SEQ ID NO: 53 и 54, соответственно);	w) 326-3C1 (SEQ ID NO: 76 и 30, соответственно);
j) 326-1 (SEQ ID NO: 56 и 58, соответственно);	x) 326-3D1 (SEQ ID NO: 77 и 30, соответственно);
k) 317-3A1 (SEQ ID NO: 64 и 26, соответственно);	y) 326-3E1 (SEQ ID NO: 78 и 30, соответственно);
l) 317-3C1 (SEQ ID NO: 65 и 26, соответственно);	z) 326-3F1 (SEQ ID NO: 79 и 30, соответственно);
m) 317-3E1 (SEQ ID NO: 66 и 26, соответственно);	aa) 326-3B N55D (SEQ ID NO: 80 и 30, соответственно);
n) 317-3F1 (SEQ ID NO: 67 и 26, соответственно);	ab) 326-4A1 (SEQ ID NO: 28 и 81, соответственно) или
o) 317-3G1 (SEQ ID NO: 68 и 26, соответственно);	ac) 326-4A2 (SEQ ID NO: 28 и 82, соответственно).

Предпочтительно моноклональное антитело к PD-1 представляет собой антитело, которое содержит переменную область тяжелой цепи (Vh) и переменную область легкой цепи (Vl) (содержащие SEQ ID NO: 24 и SEQ ID NO: 26, соответственно) и эффекторный или константный домен тяжелой цепи IgG4 (содержащий SEQ ID NO: 88), далее Mab-1, которое специфически связывается с PD-1, особенно с остатками PD-1, включая K45 и I93 или I93, L95 и P97, и ингибирует опосредованную PD-1 клеточную передачу сигналов и активности в иммунных клетках, причем антитела связываются с набором аминокислотных остатков, необходимых для его связывания с лигандом.

Моноклональное антитело к PD1 и его фрагмент могут быть получены в соответствии с изобретением в WO2015/035606 A1, полное раскрытие которого в явном виде включено в настоящий документ посредством ссылки. В одном варианте осуществления настоящего изобретения моноклональное антитело к PD1 представляет собой Mab-1, которое вводят парентерально в дозе около 30-300 мг один раз в неделю, или один раз в две недели, или один раз в три недели, или один раз в четыре недели. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения моноклональное антитело к PD1 представляет собой Mab-1, которое вводят парентерально в дозе около 200 мг один раз в три недели.

Комбинированная терапия

Комбинированную терапию можно вводить в виде одновременной, или отдельной, или последовательной схемы. При последовательном введении комбинацию можно вводить двумя или более введениями. Комбинированное введение включает совместное введение с применением отдельного состава и последовательное введение в любом порядке, причем предпочтительно существует период времени, когда оба (или все) активные агенты одновременно осуществляют свою биологическую активность.

Подходящие дозы для любого из вышеуказанных совместно вводимых агентов являются таким, которые применяют в настоящее время, и могут быть снижены за счет комбинированного действия (синергии) ингибитора мультитирозинкиназы и антитела к PD-1, например, для увеличения терапевтического индекса или снижения токсичности или других побочных эффектов или последствий.

В конкретном варианте осуществления противораковой терапии ингибитор мультитирозинкиназы и антитело к PD-1 могут быть дополнительно скомбинированы с хирургической терапией и лучевой терапией.

В варианте осуществления каждого из пяти вышеуказанных аспектов количества ингибитора мультитирозинкиназы и антитела к PD-1, описанных в настоящем документе, и относительные сроки введения должны определяться индивидуальными потребностями

пациента, подлежащего лечению, путем введения, тяжестью заболевания или болезни, режимом дозирования, а также оценкой и заключением назначенного врача.

Ингибитор мультитирозинкиназы и антитело к PD-1, описанные в настоящем документе, можно вводить различными известными способами, например, перорально, местно, ректально, парентерально, с помощью ингаляционного спрея или через имплантированный резервуар, хотя наиболее подходящий путь в любом конкретном случае будет зависеть от конкретного хозяина и природы, и тяжести состояний, для которых вводится активный ингредиент. В контексте настоящего документа термин “парентеральный” включает техники подкожной, внутрикожной, внутривенной, внутримышечной, внутрисуставной, внутриартериальной, интрасиновиальной, интрастеральной, интратекальной, внутриочаговой и внутримозговой инъекции или инфузии.

В одном варианте осуществления каждого из пяти вышеуказанных аспектов ингибитор мультитирозинкиназы и антитело к PD-1, описанные в настоящем документе, можно вводить различным путем. В предпочтительном варианте осуществления ингибитор мультитирозинкиназы вводят перорально, а антитело к PD-1 вводят парентерально, например, подкожно, внутрикожно, внутривенно или внутривентально.

В предпочтительном варианте осуществления ингибитор мультитирозинкиназы (в частности, N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль) вводят один раз в день (раз в сутки, 1р/сут), два раза в день (дважды в сутки, 2р/сут), три раза в день, четыре раза в день или пять раз в день и вводят в дозе от около 40 мг/день до около 640 мг/день. В предпочтительном варианте осуществления ингибитор мультитирозинкиназы вводят в дозе от 40 мг один раз в день до 200 мг один раз в день. В предпочтительном варианте осуществления ингибитор мультитирозинкиназы вводят в дозе от 40 мг один раз в день до 150 мг один раз в день. В более предпочтительном варианте осуществления ингибитор мультитирозинкиназы вводят в дозе от 60 мг один раз в день до 150 мг один раз в день. В наиболее предпочтительном варианте осуществления ингибитор мультитирозинкиназы вводят в дозе 120 мг один раз в день.

В предпочтительном варианте осуществления антитело к PD-1 (в частности моноклональное антитело Mab-1 к PD-1) вводят в дозе 200 мг внутривенно один раз каждые 3 недели (1р/3нед).

ПРИМЕР

Настоящее изобретение дополнительно иллюстрируется, но не ограничивается ими, следующими примерами, которые приведены в данном документе.

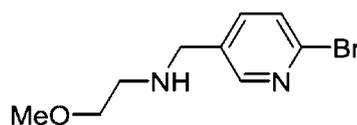
Пример 1 иллюстрирует получение кристаллической формы D N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамида (Форма D Соединения 1). И в настоящем документе Форму D Соединения 1 дополнительно применяли в доклинических и клинических исследованиях.

Пример 1

Получение кристаллической формы D N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамида (Форма D Соединения 1)

Пример 1A: Получение Соединения 1

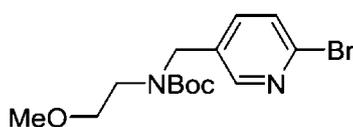
Стадия 1: N-(((6-бромпиридин-3-ил)метил)-2-метоксиэтан-1-амин (Соединение 1A)



Соединение 1A

К перемешиваемому раствору 2-метоксиэтиламина (3,0 экв.) в дихлорметане (ДХМ) (12 об.) добавляли молекулярные сита (0,3 мас./мас.) и перемешивали при 25 ± 5 °C в атмосфере азота в течение 2 ч. Содержание воды в реакционной массе контролировали с помощью анализа Карла Фишера до достижения предела содержания воды 0,5 мас.%. После достижения предела содержания воды реакционную массу, охлажденную до 5 ± 5 °C, и 6-бромникотинальдегид (1,0 экв.) добавляли в большом количестве к вышеуказанной реакционной массе в течение 30 мин при 5 ± 5 °C. Реакционную массу перемешивали при 5 ± 5 °C в течение 30 ± 5 мин и добавляли по каплям уксусную кислоту (1,05 экв.) при 5 ± 5 °C. После завершения добавления массу медленно нагревали до 25 ± 5 °C и перемешивали в течение 8 ч с получением Соединения 1A. Образование имина контролировали с помощью ВЭЖХ.

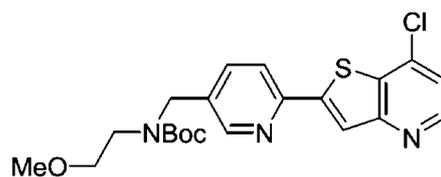
Стадия 2: трет-бутил(((6-бромпиридин-3-ил)метил)(2-метоксиэтил)карбамат (Соединение 1B)



Соединение 1B

Добавляли загружаемое Соединение 1А (1,0 экв.) в ТГФ (тетрагидрофуран) (5,0 об.) и перемешивали реакционную массу при 25 ± 5 °С в атмосфере азота в течение 30 мин. Реакционную массу охлаждали до температуры около 10 ± 5 °С. Ди-трет-бутилдикарбонат (1,2 экв.) добавляли к реакционной массе при 10 ± 5 °С в атмосфере азота, и повышали температуру реакционной массы до 25 ± 5 °С, и перемешивали реакционную массу в течение около 2 ч. Ход реакции контролировали с помощью ВЭЖХ. После завершения ИПХ (ион-парной хроматографии) загружали приготовленный раствор таурина (1,5 экв.) в 2 М водном растворе NaOH (3,1 об.) и перемешивали при 10 ± 5 °С в течение 16-18 ч. Реакционную массу дополнительно разбавляли 1 М водным раствором NaOH (3,7 об.) и слои разделяли. Водный слой экстрагировали ДХМ ($2\times 4,7$ об.) и экстракт объединяли с органическим слоем. Объединенные органические слои промывали 1 М водным раствором NaOH (3,94 об.), затем водой ($2\times 4,4$ об.) и сушили над сульфатом натрия (2,0 мас./мас.). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении при температуре ниже 40 °С до тех пор, пока не переставали наблюдать дистиллят. Последовательно добавляли тетрагидрофуран (ТГФ) (1×4 об. и 1×6 об.) и концентрировали при пониженном давлении при температуре ниже 40 °С до тех пор, пока не переставали наблюдать дистиллят, с получением Соединения 1В в виде окрашенного в светло-желтый цвет сиропа.

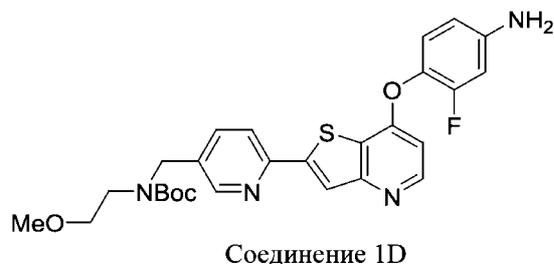
Стадия 3: трет-бутил((6-(7-хлортиено[3,2-b]пиридин-2-ил)пиридин-3-ил)метил)(2-метоксиэтил)карбамат (Соединение 1С)



Соединение 1С

К перемешиваемому раствору 7-хлортиено[3,2-b]пиридина (1,05 экв.) в тетрагидрофуране (7 об.) по каплям добавляли н-бутиллитий (2,5 М в гексане) при температуре минус 15 ± 10 °С и перемешивали при той же температуре в атмосфере азота в течение 90 мин. К реакционной массе добавляли хлорид цинка (1,05 экв.) при температуре минус 15 ± 10 °С. Реакционную массу медленно нагревали до 25 ± 5 °С и перемешивали в атмосфере азота в течение 45 мин с получением Соединения 1С. Ход реакции контролировали с помощью ВЭЖХ.

Стадия 4: трет-бутил((6-(7-(4-амино-2-фторфенокси)тиено[3,2-b]пиридин-2-ил)пиридин-3-ил)метил)(2-метоксиэтил)карбамат (Соединение 1D)



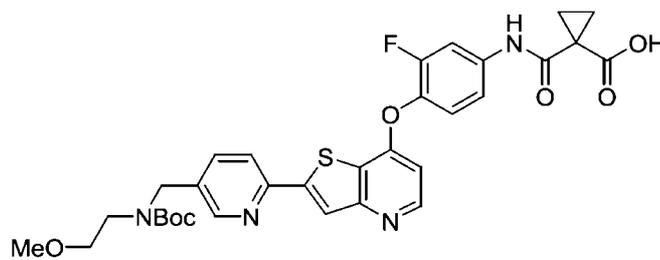
3-фтор-4-гидроксибензоламиний хлорид (1,2 экв.) в ДМСО (диметилсульфоксид) (3,9 об.) при 25 ± 5 °C загружали в атмосфере азота и перемешивали реакционную массу до тех пор, пока не наблюдали прозрачный раствор, при 25 ± 5 °C. t-BuOK (трет-бутоксид калия) добавляли в большом количестве в атмосфере азота при 25 ± 10 °C. Температуру реакционной массы повышали до 45 ± 5 °C и выдерживали в атмосфере азота в течение 30 мин. Соединение 1C загружали в большом количестве в атмосфере азота при 45 ± 5 °C и перемешивали в течение 10 мин при 45 ± 5 °C. Реакционную смесь нагревали до 100 ± 5 °C и перемешивали в течение 2 ч. Реакционную массу контролировали с помощью ВЭЖХ.

После завершения реакции реакционную массу охлаждали до 10 ± 5 °C и гасили охлажденной водой (20 об.) при 10 ± 5 °C. Температуру массы повышали до 25 ± 5 °C и перемешивали в течение 7-8 ч. Полученное неочищенное Соединение 1D собирали фильтрованием и промывали 2 объемами воды. Неочищенный материал Соединения 1D помещали в воду (10 об.) и перемешивали при 25 ± 5 °C в течение до 20 мин. Реакционную массу нагревали до 45 ± 5 °C и перемешивали при 45 ± 5 °C в течение 2-3 ч, отфильтровывали и сушили в вакууме.

Неочищенное Соединение 1D помещали в МТБЭ (трет-бутилметиловый эфир) (5 об.) при 25 ± 5 °C и перемешивали при 25 ± 5 °C в течение около 20 мин. Температуру реакционной массы повышали до 45 ± 5 °C, перемешивали при 45 ± 5 °C в течение 3-4 ч и затем охлаждали до 20 ± 5 °C. Реакционную массу перемешивали при 20 ± 5 °C в течение около 20 мин, отфильтровывали, затем промывали слой водой (0,5 об.) и сушили в вакууме.

Неочищенный материал растворяли в ацетоне (10 об.) при 25 ± 5 °C и перемешивали при 25 ± 5 °C в течение около 2 ч. Реакционную массу отфильтровывали через слой целита и промывали ацетоном (2,5 об.). Фильтрат медленно разбавляли водой (15 об.) при 25 ± 5 °C. Реакционную массу перемешивали при 25 ± 5 °C в течение 2-3 ч, фильтровали и промывали слой водой (2 об.), и сушили в вакууме с получением Соединения 1D в виде коричневого твердого вещества.

Стадия 5: 1-(((4-((2-(5-(((трет-бутоксикарбонил)(2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)-3-фторфенил)карбамоил)циклопропан-1-карбоновая кислота (Соединение 1E)

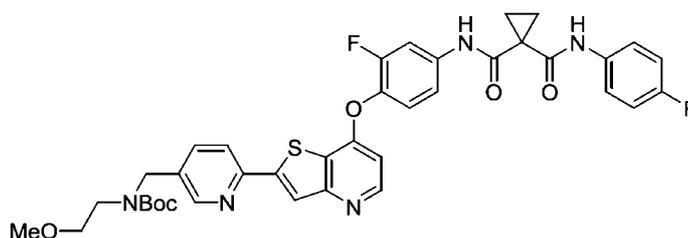


Соединение 1E

К раствору Соединения 1D (1,0 экв.) в тетрагидрофуране (7 об.) добавляли водный карбонат калия (1,0 экв.) в воде (8 об.). Раствор охлаждали до 5 ± 5 °C и перемешивали в течение около 60 мин. При перемешивании к раствору 1,1-циклопропандикарбоновой кислоты (2,0 экв.) в тетрагидрофуране (8 об.) при 5 ± 5 °C отдельно добавляли триэтиламин (2,0 экв.), затем тионилхлорид (2,0 экв.) и перемешивали в течение около 60 мин. Массу хлорангидрида медленно добавляли к раствору Соединения 1D при 5 ± 5 °C. Температуру повышали до 25 ± 5 °C и перемешивали в течение 3,0 ч. Реакцию контролировали с помощью анализа ВЭЖХ.

После завершения реакции массу разбавляли этилацетатом (5,8 об.), водой (5,1 об.), 10% (мас./мас.) водным раствором соляной кислоты (0,8 об.) и 25% (мас./мас.) водным раствором хлорида натрия (2 об.). Водный слой отделяли и экстрагировали этилацетатом (2×5 об.). Объединенные органические слои промывали 0,5 М водным раствором бикарбоната натрия (7,5 об.). Органический слой обрабатывали активированным углем Дарко (0,5 мас./мас.) и сульфатом натрия (0,3 мас./мас.) при 25 ± 5 °C в течение 1,0 ч. Органический слой фильтровали через целит и промывали тетрагидрофураном (5,0 об.). Фильтрат концентрировали под вакуумом при температуре ниже 50 °C до около 3 об. и совместно перегоняли с этилацетатом (2×5 об.) под вакуумом при температуре ниже 50 °C до около 3,0 об. Органический слой охлаждали до 15 ± 5 °C, перемешивали в течение около 60 мин, отфильтровывали, а твердое вещество промывали этилацетатом (2,0 об.). Материал сушили под вакуумом при 40 ± 5 °C до достижения содержания воды менее 1% с получением Соединения 1E в виде коричневого твердого вещества.

Стадия 6: трет-бутил((6-(7-(2-фтор-4-(1-((4-фторфенил)карбамоил)циклопропан-1-карбоксамидо)фенокси)тиено[3,2-b]пиридин-2-ил)пиридин-3-ил)метил)(2-метоксиэтил)карбамат (Соединение 1F)

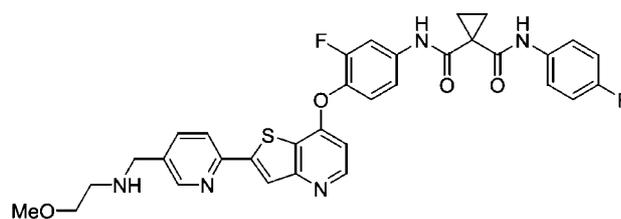


Соединение 1F

Пиридин (1,1 экв.) добавляли к суспензии Соединения 1E (1,0 экв.) в тетрагидрофуране (10 об.) и охлаждали до 5 ± 5 °C. Добавляли тионилхлорид (2,0 экв.) и перемешивали в течение около 60 мин. Получение хлорангирида подтверждали с помощью анализа ВЭЖХ после гашения образца в метаноле. Отдельно водный раствор (7,0 об. воды) карбоната калия (2,5 экв.) добавляли к раствору 4-фторанилина (3,5 экв.) в тетрагидрофуране (10 об.), охлаждали до 5 ± 5 °C и перемешивали в течение около 60 мин. Температуру массы хлорангирида при 5 ± 5 °C повышали до температуры около 25 ± 5 °C и перемешивали в течение 3 ч. Реакцию контролировали с помощью анализа ВЭЖХ.

После завершения реакции раствор разбавляли этилацетатом (25 об.), органический слой отделяли и промывали 1 М водным раствором гидроксида натрия (7,5 об.), 1 М водным раствором соляной кислоты (7,5 об.) и 25% (мас./мас.) водным раствором хлорида натрия (7,5 об.). Органический слой сушили и фильтровали сульфатом натрия (1,0 мас./мас.). Фильтрат концентрировали под вакуумом при температуре ниже 50 °C до около 3 об. и совместно перегоняли с этилацетатом (3×5 об.) под вакуумом при температуре ниже 50 °C до около 3,0 об. Этилацетат (5 об.) и МТБЭ (10 об.) загружали, нагревали до 50 ± 5 °C и перемешивали в течение 30-60 мин. Смесь охлаждали до 15 ± 5 °C, перемешивали в течение около 30 мин, фильтровали, а твердое вещество промывали этилацетатом (2,0 об.). Содержание МГВЗ анализировали с помощью анализа ВЭЖХ. Материал сушили под вакуумом при 40 ± 5 °C до достижения содержания воды около 3,0 % с получением Соединения 1F в виде коричневого твердого вещества.

Стадия 7: N-(3-фтор-4-((2-(5-(((2-метоксиэтил)амино)метил)пиридин-2-ил)тиено[3,2-b]пиридин-7-ил)окси)фенил)-N-(4-фторфенил)циклопропан-1,1-дикарбоксамид (Соединения 1)



Соединение 1

К смеси Соединения 1F в ледяной уксусной кислоте (3,5 об.) добавляли концентрированную соляную кислоту (0,5 об.) и перемешивали при 25 ± 5 °C в течение 1,0 ч. Реакцию контролировали с помощью анализа ВЭЖХ.

После завершения реакции массу добавляли к воде (11 об.) и перемешивали при 20 ± 5 °C в течение 30 мин. Значение pH доводили до $3,0\pm 0,5$ с помощью 10% (мас./мас.) водного раствора бикарбоната натрия, и смесь перемешивали при 20 ± 5 °C в течение приблизительно 3,0 ч. Массу фильтровали, промывали водой (4×5,0 об.) и pH фильтрата

проверяли после каждой промывки. Материал сушили под вакуумом при 50 ± 5 °C до достижения содержания воды около 10 %.

Неочищенное Соединение 1 помещали в этилацетат (30 об.), нагревали до 70 ± 10 °C, перемешивали в течение 1,0 ч, охлаждали до 25 ± 5 °C, фильтровали и промывали этилацетатом (2 об.). Материал сушили под вакуумом при 45 ± 5 °C в течение 6,0 ч.

Неочищенное Соединение 1 помещали в тетрагидрофуран (30 об.), осветленный до блеска фильтрованием, и предварительно промывали ионообменной смолой Amberlyst A-21 и перемешивали при 25 ± 5 °C пока раствор не стал прозрачным. После получения прозрачного раствора смолу фильтровали и промывали тетрагидрофураном (15 об.), осветленным до блеска фильтрованием. Фильтрат концентрировали под вакуумом при температуре ниже 50 °C до около 50 % и совместно перегоняли с изопропиловым спиртом (IPA) ($3\times 15,0$ об.), осветленным до блеска фильтрованием, и концентрировали под вакуумом при температуре ниже 50 °C до около 50 %. Добавляли загруженный IPA (15 об.), осветленный до блеска фильтрованием, и концентрировали раствор под вакуумом при температуре ниже 50 °C до около 20 об. Реакционную массу нагревали до 80 ± 5 °C, перемешивали в течение 60 мин и охлаждали до 25 ± 5 °C. Полученную реакцию массу перемешивали при 25 ± 5 °C в течение около 20 ч. Реакционную массу охлаждали до 0 ± 5 °C, перемешивали в течение 4-5 ч, фильтровали и промывали изопропиловым спиртом (2 об.), осветленным до блеска фильтрованием. Материал сушили под вакуумом при 45 ± 5 °C до достижения содержания воды около 2 % с получением желаемого продукта Соединения 1. $^1\text{H-NMR}$ (400 МГц, DMSO-d_6): δ 10,40 (s, 1H), 10,01 (s, 1H), 8,59 – 8,55 (m, 1H), 8,53 (d, $J = 5,6$ Гц, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,23 (d, $J = 8,0$ Гц, 1H), 7,96 – 7,86 (m, 2H), 7,70 – 7,60 (m, 2H), 7,56 – 7,43 (m, 2H), 7,20 – 7,11 (m, 2H), 6,66 (d, $J = 5,6$ Гц, 1H), 3,78 (s, 2H), 3,41 (t, $J = 5,6$ Гц, 2H), 3,25 (s, 3H), 2,66 (t, $J = 5,6$ Гц, 2H), 1,48 (s, 4H) млн^{-1} . MS: M/e 630 ($M+1$)⁺.

Пример 1В: Получение кристаллической формы D Соединения 1

В реактор объемом 50 л добавляли 7,15 кг Соединения 1, 40 г Формы D в виде кристаллической затравки и 21 л ацетона (≥ 99 %). Смесь нагревали до появления конденсата (около 56 °C) в течение около 1-2 ч. Смесь перемешивали при внутренней температуре 20 ± 5 °C в течение по меньшей мере 24 ч. Затем суспензию фильтровали и промывали фильтровальный кек 7 л ацетона. Влажный кек сушили под вакуумом при температуре меньшей или равной 45 °C с получением 5,33 кг Соединения 1 желаемой формы D.

Порошковая рентгеновская дифракция (XRPD)

Дифрактограммы XRPD получали с помощью дифрактометра PANalytical X'Pert PRO MPD, использующего падающий пучок излучения Cu, полученного с помощью длинного источника точной фокусировки Optix. Эллиптически градуированное многослойное зеркало применяли для фокусировки рентгеновских лучей Cu Ka через образцы и на детектор. Перед анализом образец кремния (NIST SRM 640e) проанализировали для проверки того, что наблюдаемое положение пика Si III соответствует положению, сертифицированному NIST (Национальный Институт Стандартов и Технологии). Образец каждого образца был зажат между пленками толщиной 3 мкм и проанализирован в геометрии пропускания. Для минимизации фонового излучения, создаваемого воздухом, применяли ограничитель луча, короткий антирассеивающий удлинитель и антирассеивающий ножевой коллиматор. Щели Соллера для падающего и дифракционных лучей использовали для минимизации уширения от осевого расхождения. Дифрактограммы получали с помощью сканирующего позиционно-чувствительного детектора (X'Celerator), расположенного в 240 мм от образцов, а программное обеспечение Data Collector Software v. 2.2b. Pattern Match v2.3.6 применяли для создания дифрактограмм XRPD.

Для характеристики полученного Соединения 1 использовали порошковую рентгеновскую дифрактограмму (XRPD), которая показала, что Соединение 1 находится в кристаллической форме D Соединения 1 (Форма D Соединения 1), см. Фигуру 1А.

Пример 2С: Получение Формы D Соединения 1

427,0 мг Соединения 1 растворяли в 5 мл ТГФ с получением прозрачного коричневого раствора. Полученный раствор фильтровали и фильтрат выпаривали в токе азота. Получали липкое твердое вещество, которое сушили под вакуумом при комнатной температуре в течение около 5 мин, получая все еще липкое коричневое твердое вещество. Его растворяли в 0,2 мл EtOAc (этилацетата) и обрабатывали ультразвуком для растворения. Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин и осаждали твердое вещество. К полученному твердому веществу добавляли 0,4 мл EtOAc и перемешивали при комнатной температуре в течение 21 ч 40 мин с получением суспензии. Твердое вещество отделяли от маточного раствора центрифугированием, затем полученное твердое вещество ресуспендировали в 0,6 мл EtOAc и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 дней. Твердое вещество выделяли центрифугированием с получением Соединения 1 желаемой Формы D.

Для характеристики полученного Соединения 1 применяли порошковую рентгеновскую дифрактограмму (XRPD), которая показала, что Соединение 1 находится в кристаллической Форме D Соединения 1 (Форма D Соединения 1).

Кристаллизацию в Примере 1 можно проводить с кристаллической затравкой или без нее. Кристаллическая затравка может быть из любой предыдущей партии желаемой кристаллической формы. В настоящем изобретении добавление кристаллической затравки может не влиять на получение кристаллических форм.

Пример 2

Комбинированная эффективность ингибитора мультитирозинкиназы в сочетании с антителом к PD-1

Пример 2А: Исследование Соединения 1 в комбинации с Mab-1 в аллогенной модели A431

Способ

Самок мышей Nod-Scid предварительно обрабатывали циклофосфамидом (в физиологическом растворе, 100 мг/кг внутривенно, один раз в день × 2) и дисульфидом (в 0,8% Tween-80 в физиологическом растворе 125 мг/кг через пероральный зонд, через 2 часа после введения дозы циклофосфамида). Через два дня мышам с более высокой массой тела подкожно имплантировали на правый бок $2,5 \times 10^6$ клеток A431 (эпидермальной карциномы) и 5×10^6 свежесодержанных мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК). После инокуляции мышей случайным образом распределяли на 4 группы по 10 животных в каждой группе в соответствии с массой тела. Затем мышам обрабатывали носителем (ПЭГ 400/0,1 Н HCL в физиологическом растворе, 40/60), Mab-1, Соединением 1 и комбинацией Mab-1 и Соединения 1, соответственно. Mab-1 вводили в дозе 10 мг/кг один раз в неделю (1р/нед) путем внутривенной (в/в) инъекции, а Соединение 1 вводили в дозе 1,5 мг/кг один раз в сутки (1р/сут) через пероральный зонд (п/о). Объем опухоли измеряли два раза в неделю в двух измерениях с помощью штангенциркуля и выражали в мм^3 по формуле: $V = 0,5(a \times b^2)$, где а и b представляют размеры по длинной и короткой осям опухоли, соответственно.

Данные представлены в виде среднего значения объема опухоли ± стандартная ошибка среднего (SEM). Торможение роста опухоли (ТРО) рассчитывают по следующей формуле:

$$\% \text{ торможения роста} = 100 \times \left(1 - \left(\frac{(\text{обработанный объем } t) - (\text{обработанный объем } t_0)}{(\text{объем плацебо } t) - (\text{объем плацебо } t_0)} \right) \right),$$

обработанный объем t представляет собой обработанный объем опухоли в момент времени t ;

обработанный объем t_0 представляет собой обработанный объем опухоли в момент времени 0 ;

объем плацебо t представляет собой объем опухоли плацебо в момент времени t ;

объем плацебо t_0 представляет собой объем опухоли плацебо в момент времени 0 .

Результат

Ответ аллогенных ксенотрансплантатов A431 на Mab-1 и Соединение 1 показан на Фигуре 2А и в таблице 2А. На 26-й день Mab-1 (10 мг/кг 1р/нед \times 4), Соединение 1 (1,5 мг/кг 1р/сут \times 26) и их комбинированное лечение приводили к 50%, 37% и 79% статистически значимому торможению роста опухоли (ТРО), соответственно, что свидетельствовало о сильном комбинированном эффекте Mab-1 и Соединения 1 в аллогенной модели A431. Никаких признаков токсичности не наблюдалось в течение всего периода лечения.

Таблица 2А. Комбинированная эффективность Mab-1 и Соединения 1 в аллогенной модели A431

Тестовый образец	Доза (мг/кг)	N	ТРО (%) на 26-й день	Средний объем опухоли на 26-й день (мм ³)
Носитель	0	8	-	1355,5
Mab-1	10	7	50	673,3
Соединение 1	1,5	7	37	851,5
Mab-1 + Соединение 1	10 + 1,5	8	79	278,3

Пример 2В: Исследование Соединения 1 в комбинации с muCh15mt в сингенной модели СТ26WT

В контексте настоящего документа muCh15mt представляет собой внутренне генерируемое антитело к PD-1.

Способ

Самкам мышей линии BALB/c подкожно имплантировали на правый бок 2×10^5 клеток СТ26WT (карциномы толстой кишки) в 150 мкл PBS (фосфатно-солевой буфер). После инокуляции мышей случайным образом распределяли на 4 группы по 12 животных в каждой группе. Мышей обрабатывали носителем (ПЭГ 400/0,1 Н HCL в

физиологическом растворе, 40/60), muCh15mt, Соединением 1 и комбинацией muCh15mt и Соединения 1, соответственно. MuCh15mt вводили в дозе 3 мг/кг один раз в неделю (1р/нед) путем внутривенной (в/в) инъекции, а Соединение 1 вводили в дозе 5 мг/кг один раз в сутки (1р/сут) через пероральный зонд. Объем опухоли измеряли два раза в неделю в двух измерениях с помощью штангенциркуля и выражали в мм³ по формуле: $V = 0,5(a \times b^2)$, где а и b представляют размеры по длинной и короткой осям опухоли, соответственно. Данные представлены в виде среднего значения объема опухоли ± стандартная ошибка среднего (SEM). Торможение роста опухоли (ТРО) рассчитывают по следующей формуле:

$$\% \text{ торможения роста} = 100 \times \left(1 - \left(\frac{(\text{обработанный объем } t) - (\text{обработанный объем } t_0)}{(\text{объем плацебо } t) - (\text{объем плацебо } t_0)} \right) \right),$$

обработанный объем t представляет собой обработанный объем опухоли в момент времени t;

обработанный объем t₀ представляет собой обработанный объем опухоли в момент времени 0;

объем плацебо t представляет собой объем опухоли плацебо в момент времени t;

объем плацебо t₀ представляет собой объем опухоли плацебо в момент времени 0.

Результат

Ответ сингенной модели СТ26WT на muCh15mt и Соединение 1 показан на Фигуре 2В и в таблице 2В. На 28-й день muCh15mt (3 мг/кг 1р/нед × 4), Соединение 1 (5 мг/кг 1р/сут × 28) и их комбинированное лечение приводили к 64%, 71% и 96% торможению роста опухоли, соответственно. Между тем, обработка также привела к тому, что 20 %, 6,7 % и 66,7 % животных не имели опухолей, соответственно. Данные свидетельствуют о сильной комбинированной противоопухолевой активности Соединения 1 и muCh15mt в модели СТ26WT. Никаких признаков токсичности не наблюдалось в течение всего периода лечения.

Таблица 2В. Комбинированная эффективность muCh15mt и Соединения 1 в сингенной модели СТ26WT

Тестовый образец	Доза (мг/кг)	N	(%) Животных без опухоли на 28-й день	ТРО (%) на 28-й день	Средний объем опухоли на 28-й день (мм ³)
Носитель	0	15	0	-	2463,6

muCh15mt	3	15	20,0	64	890,0
Соединение 1	5	15	6,7	71	723,2
muCh15mt + Соединение 1	3 + 5	15	66,7	96	109,3

Пример 2С: Исследование Соединения 1 в комбинации с muCh15mt в сингенной модели МС38

Способ

Самкам мышей линии BALB/С подкожно имплантировали на правый бок 1×10^6 клеток МС38 (аденокарцинома толстой кишки) в 150 мкл PBS. После инокуляции мышей случайным образом распределяли на 4 группы по 15 животных в каждой группе. Мышей обрабатывали носителем (ПЭГ 400/0,1 Н HCL в физиологическом растворе, 40/60), muCh15mt, Соединением 1 и комбинацией лечения muCh15mt и Соединения 1, соответственно. MuCh15mt вводили в дозе 3 мг/кг один раз в неделю (1р/нед) путем внутрибрюшинной (в/б) инъекции, а Соединение 1 вводили в дозе 5 мг/кг один раз в сутки (1р/сут) в течение 25 дней через пероральный зонд (П. 3.). Объемы опухоли измеряли два раза в неделю в двух измерениях с помощью штангенциркуля и выражали в мм^3 по формуле: $V = 0,5(a \times b^2)$, где а и b представляют размеры по длинной и короткой осям опухоли, соответственно.

Данные представлены в виде среднего значения объема опухоли \pm стандартная ошибка среднего (SEM). Торможение роста опухоли (ТРО) рассчитывают по следующей формуле:

$$\% \text{ торможения роста} = 100 \times \left(1 - \frac{(\text{обработанный объем } t) - (\text{обработанный объем } t_0)}{(\text{объем плацебо } t) - (\text{объем плацебо } t_0)} \right)$$

обработанный объем t представляет собой обработанный объем опухоли в момент времени t;

обработанный объем t_0 представляет собой обработанный объем опухоли в момент времени 0;

объем плацебо t представляет собой объем опухоли плацебо в момент времени t;

объем плацебо t_0 представляет собой объем опухоли плацебо в момент времени 0.

Результат

Ответ сингенной модели МС38 на muCh15mt и Соединение 1 показан на Фигуре 2С и в таблице 2С. На 25-й день muCh15mt (3 мг/кг 1р/нед \times 4), Соединение 1 (5 мг/кг 1р/сут \times 25) и их комбинированное лечение приводили к 42%, 56% и 96% торможению

роста опухоли, соответственно. Между тем, комбинированное лечение привело к тому, что 40 % животных не имели опухолей. Данные свидетельствуют о сильной комбинированной противоопухолевой активности Соединения 1 с muCh15mt в сингенной модели MC38.

Таблица 2С. Комбинированная эффективность muCh15mt и Соединения 1 в сингенной модели MC38

Тестовый образец	Доза (мг/кг)	N	% Животных без опухоли на 25-й день	ТРО (%) на 25-й день	Средний объем опухоли на 25-й день (мм ³)
Носитель	0	15	0	-	2198,1
muCh15mt	3	15	0	42	1412,5
Соединение 1	5	15	0	56	1089,5
muCh15mt + Соединение 1	3 + 5	15	40,0	94	122,6

Пример 2D: Исследование Соединения 1 в комбинации с muCh15mt в сингенной модели A20

Способ

Самкам мышей линии BALB/C подкожно имплантировали на правый бок 1×10^5 клеток A20 (B-клеточная лимфома) в 150 мкл PBS. После инокуляции объемы опухоли измеряли два раза в неделю в двух измерениях с помощью штангенциркуля и выражали в мм³ по формуле: $V = 0,5(a \times b^2)$, где a и b представляют размеры по длинной и короткой осям опухоли, соответственно. Когда объем опухоли достигал приблизительно 100 мм³, мышей случайным образом распределяли на 4 группы по 12 животных в каждой группе в соответствии с объемом опухоли. Затем мышей обрабатывали носителем (ПЭГ 400/0,1 Н HCL в физиологическом растворе, 40/60), muCh15mt, Соединением 1 и комбинацией, соответственно. MuCh15mt вводили в дозе 3 мг/кг один раз в неделю (1р/нед) путем внутрибрюшинной (в/б) инъекции, а Соединение 1 вводили в дозе 5 мг/кг один раз в сутки (1р/сут) через пероральный зонд (П. З.).

Данные представлены в виде среднего значения объема опухоли \pm стандартная ошибка среднего (SEM). Торможение роста опухоли (ТРО) рассчитывают по следующей формуле:

$$\% \text{ торможения роста} = 100 \times \left(1 - \left(\frac{(\text{обработанный объем } t) - (\text{обработанный объем } t_0)}{(\text{объем плацебо } t) - (\text{объем плацебо } t_0)} \right) \right),$$

обработанный объем t представляет собой обработанный объем опухоли в момент времени t ;

обработанный объем t_0 представляет собой обработанный объем опухоли в момент времени 0 ;

объем плацебо t представляет собой объем опухоли плацебо в момент времени t ;

объем плацебо t_0 представляет собой объем опухоли плацебо в момент времени 0 .

Результат

Ответ сингенной модели A20 на muCh15mt и Соединение 1 показан на Фигуре 2D и в таблице 2D. На 15-й день muCh15mt (3 мг/кг 1р/нед × 3), Соединение 1 (5 мг/кг 1р/сут × 18) и их комбинированное лечение приводили к 81%, 71% и 97% торможению роста опухоли, соответственно. Между тем, лечение также привело к тому, что 33,3 %, 8,3 % и 91,7 % животных не имели опухолей, соответственно. Данные свидетельствуют о сильной комбинированной противоопухолевой активности Соединения 1 с muCh15mt в сингенной модели A20.

Таблица 2D. Комбинированная эффективность muCh15mt и Соединения 1 в сингенной модели A20

Тестовый образец	Доза (мг/кг)	N	% Животных без опухоли на 18-й день	ТРО (%) на 15-й день	Средний объем опухоли на 18-й день (мм ³)
Носитель	0	12	0	-	- ^a
muCh15mt	3	12	33,3	81	487,0
Соединение 1	5	12	8,3	71	735,7
muCh15mt + Соединение 1	3 + 5	12	91,7	97	90

a: данные не представлены, т. к. два животных с объемом опухоли более 2000 мм³ были умерщвлены

Пример 3

Клинические исследования ингибитора мультитирозинкиназы в комбинации с Mab-1

Пример 3А: Фаза I клинического исследования

Способ

Фаза 1b клинического исследования представляет собой открытое, многоцентровое, нерандомизированное клиническое исследование для пациентов с гистологически или цитологически подтвержденными местно-распространенными или метастатическими опухолями, включая плоскоклеточный или неплоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), почечно-клеточный рак (ПКР), рак яичников (РЯ) или меланому.

Все пациенты получают 120 мг Соединения 1 перорально один раз в день (1р/сут) в комбинации с 200 мг Mab-1 внутривенно один раз каждые 3 недели (1р/3нед) до возникновения прогрессирования заболевания (PD), неприемлемой токсичности, смерти, отзыва согласия или прекращения исследования.

Основная цель исследования заключалась в оценке безопасности и переносимости Соединения 1 и Mab-1 в качестве комбинированной терапии. Общая частота ответа, продолжительность ответа (DOR), частота контроля заболевания и выживаемость без прогрессирования (PFS) оценивали как вторичные конечные точки.

В исследовании участвуют 9 когорт – от когорты А до I. Приблизительно 20 пациентов включены в каждую когорту, за исключением когорты Е, которую расширили до 60 пациентов. Пациенты включены в исследование в соответствии с типом их опухоли и предшествующим лечением антителами к белку программируемой клеточной смерти 1 (PD-1)/PD-L1.

- a) Когорта А: рефрактерный/резистентный к антителу к PD-1/PD-L1 метастатический неплоскоклеточный НМРЛ;
- b) Когорта В: ранее не получавший лечения антителом к PD-1/PD-L1 метастатический неплоскоклеточный НМРЛ;
- c) Когорта С: рефрактерный/резистентный к антителу к PD-1/PD-L1 метастатический или распространенный ПКР;
- d) Когорта D: метастатический или распространенный ПКР без предварительного системного лечения;
- e) Когорта Е: ранее не получавший лечения антителом к PD-1/PD-L1 рецидивирующий и платино-резистентный эпителиальный РЯ;
- f) Когорта F: рефрактерный/резистентный к антителу к PD-1/PD-L1 метастатический плоскоклеточный НМРЛ;
- g) Когорта G: рефрактерная/резистентная к антителу к PD-1/PD-L1 неоперабельная или метастатическая меланома;

h) Когорта H: положительный по экспрессии PD-L1, ранее не получавший лечения местно-распространенный или метастатический неплоскоклеточный НМРЛ;

i) Когорта I: положительный по экспрессии PD-L1, ранее не получавший лечения местно-распространенный или метастатический плоскоклеточный НМРЛ.

Критерии

Критерии включения:

1. Способен предоставить письменное информированное согласие и может понимать и соглашаться соблюдать требования исследования и график проведения обследований.

2. Возраст больше или равен 18 годам на день подписания формы информированного согласия (или законный возраст согласия в юрисдикции, в которой проводится исследование).

3. По меньшей мере 1 измеряемое поражение, как определено в RECIST v1.1.

4. Обеспечивает архивную опухолевую ткань (фиксированный формалином парафинированный блок [FFPE] с опухолевой тканью или неокрашенными предметными стеклами), если таковые имеются.

5. Показатель общего состояния по критериям Восточной объединенной онкологической группы (ECOG) меньше или равен 1.

6. Адекватная гематологическая и конечно-органная функция.

7. Пациенты с неактивным/бессимптомным носителем, хроническим или активным вирусом гепатита В (HBV) должны иметь концентрацию дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) HBV меньше 500 МЕ(международные единицы)/мл (или 2500 копий/мл) при скрининге.

8. Женщины, способные к деторождению, должны быть готовы применять высокоэффективный способ контроля рождаемости в течение всего исследования и ≥ 120 дней после приема последней дозы исследуемых лекарственных средств и иметь отрицательный результат теста на беременность в сыворотке в течение ≤ 7 дней после приема первой дозы исследуемых лекарственных препаратов.

9. Нестерильные мужчины должны быть готовы применять высокоэффективный метод контроля рождаемости в течение всего исследования и ≥ 120 дней после приема последней дозы исследуемых лекарственных средств.

Критерии исключения:

1. Неприемлемая токсичность при предыдущем лечении антителами к PD-1/PD-L1.

2. Активное лептоменингеальное заболевание или неконтролируемые метастазы в головном мозгу.
3. Активные аутоиммунные заболевания или аутоиммунные заболевания в анамнезе, которые могут рецидивировать.
4. Любое активное злокачественное новообразование ≤ 2 лет.
5. Любое состояние, которое требует системного лечения либо кортикостероидами (больше 10 мг преднизона или эквивалента в сутки), либо другими иммуносупрессивными лекарственными средствами в течение ≤ 14 дней до приема первой дозы исследуемых лекарственных препаратов.
6. Интерстициальная болезнь легких в анамнезе, неинфекционный пневмонит или неконтролируемые заболевания, включая фиброз легких, острые заболевания легких и т. д.
7. Тяжелые хронические или активные инфекции (включая туберкулезную инфекцию и т. д.), требующие системной антибактериальной, противогрибковой или противовирусной терапии, в течение 14 дней до приема первой дозы исследуемых лекарственных средств.
8. ВИЧ-инфекция в анамнезе.
9. Пациенты с активной инфекцией гепатита С.
10. Любая крупная хирургическая процедура, требующая общей анестезии, за ≤ 28 дней до приема первой дозы исследуемых лекарственных средств.
11. Предварительная трансплантация аллогенной стволовой клетки или трансплантация органа.
12. Гиперчувствительность к тислелизумабу или ситраватинибу, к любому ингредиенту в лекарственном составе или к любому компоненту контейнера.
13. Кровотечение, или тромботические расстройства, или применение антикоагулянтов, таких как варфарин, или аналогичных агентов, требующие терапевтического мониторинга МНО (Международное нормализованное отношение), в течение 6 месяцев до приема первой дозы исследуемых лекарственных средств.
15. Одновременное участие в другом терапевтическом клиническом исследовании.

Выводы/Результаты

Комбинированное лечение Mab-1 и Соединением 1 может обладать перспективной противоопухолевой активностью у пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ), у пациентов с почечно-клеточным раком (ПКР), у пациентов с раком яичников (РЯ) или у пациентов с меланомой.

[0104] По состоянию на дату завершения сбора данных 17 июля 2019 г. в Когорту Е (пациенты, ранее не получавшие лечения антителом к PD-1/PD-L1 с рецидивирующим платино-резистентным эпителиальным РЯ) было включено 20 пациентов. Все 20 пациентов, получавших исследуемые лекарственные средства, были включены в анализ безопасности. Нежелательными явлениями, возникшими после начала лечения (НЯВПНЛ), у ≥ 30 % пациентов были диарея, артериальная гипертензия, боль в животе, тошнота, повышенная утомляемость, снижение аппетита и гипомагниемия. Восемь пациентов (40,0 %) испытывали НЯВПНЛ степени большей или равной 3, связанные с Соединением 1, в то время как 2 пациента (10,0 %) испытывали НЯВПНЛ степени большей или равной 3, связанные с Mab-1. Из 17 пациентов, пригодных для оценки эффективности, 4 пациента достигли частичного ответа, 11 пациентов имели стабильное заболевание и 2 пациента имели прогрессирующее заболевание по критериям оценки ответа опухоли на терапию RECIST версии 1.1, медиана выживаемости без признаков прогрессирования заболевания (ВБ) составляла 18,0 недель, а медиана продолжительности ответа (DOR) не была достигнута (НД) (оба диапазона, 12,29 недель-НД). Комбинированное лечение Mab-1 и Соединением 1 было управляемым, с многообещающей противоопухолевой активностью у пациентов с раком яичников.

По состоянию на 26 июня 2020 года в общей сложности 160 субъектов были включены в исследование и прошли лечение. Связанные с лечением НЯ (нежелательные явления) большей или равной 3 степени были зарегистрированы у 67 субъектов (42 %), а НЯ, зарегистрированные у 5 или более субъектов (больше или равно 3 %), включали артериальную гипертензию (16 %), повышение уровня АЛТ (аланинаминотрансфераза) (7 [4 %]), диарею (7 [4 %]) и стоматит (5 [3 %]). Среди 160 пациентов с имеющимися данными по безопасности связанные с лечением БНЯ (нежелательные явления, связанные с безопасностью) были зарегистрированы у 44 субъектов (28 %) и включали диарею у 6 субъектов (4 %) и пневмонию и повышение уровня трансаминаз у 4 субъектов (3 %) каждая. Все остальные БНЯ, связанные с лечением, возникли у 2 или менее субъектов (меньше 2 %) в целом.

Комбинация Mab-1 и Соединения 1 продемонстрировала в основном управляемый профиль безопасности и показала многообещающую противоопухолевую активность у пациентов с диагностированным раком на поздней стадии. Это устраняет неудовлетворенные медицинские потребности пациентов, ранее не получавших ингибитор контрольных точек, резистентных или рефрактерных к ним.

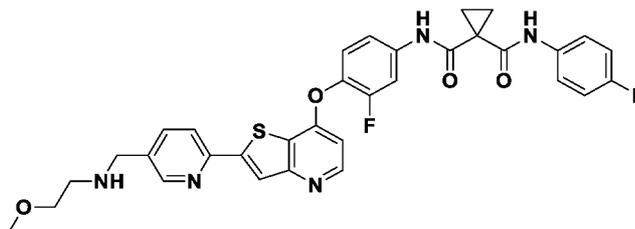
Вышеприведенные примеры и описание некоторых вариантов осуществления изобретения следует рассматривать как иллюстрацию, а не как ограничение настоящего

изобретения, как определено формулой изобретения. Следует понимать, что многочисленные варианты и комбинации описанных выше признаков могут быть использованы без отступления от сущности настоящего изобретения, изложенной в формуле изобретения. Все такие варианты предназначены для включения в объем настоящего изобретения. Все цитируемые ссылки включены в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ предотвращения, замедления прогрессирования или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества ингибитора мультитирозинкиназы в комбинации с терапевтически эффективным количеством антагониста PD-1 (белок программируемой клеточной смерти 1),

где ингибитор мультитирозинкиназы представляет собой Соединение 1,



Соединение 1

или его стереоизомер, или его фармацевтически приемлемую соль,

где антагонист PD-1 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с PD-1 человека, содержащее переменную область тяжелой цепи (Vh) и переменную область легкой цепи (Vk), которые содержат определяющие комплементарность области (CDR), перечисленные ниже:

- a) mu317 CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 11, 12, 13, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 14, 15, 16, соответственно);
- b) mu326 CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 17, 18, 19, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 20, 21, 22, соответственно);
- c) 317-4B6 CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 31, 32, 33, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 34, 35, 36, соответственно);
- d) 326-4A3 CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 37, 38, 39, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 40, 41, 42, соответственно);
- e) 317-1H CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 11, 59, 13, соответственно); и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 14, 15, 16, соответственно);
- f) 317-4B2 CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 11, 60, 13, соответственно); и

- CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 61, 15, 16, соответственно);
- g) 317-4B5 CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 11, 60, 13, соответственно); и
CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 61, 15, 16, соответственно);
- h) 317-4B6 CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 11, 32, 13, соответственно); и
CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 61, 15, 16, соответственно);
- i) 326-1 CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 17, 62, 19, соответственно); и
CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 20, 21, 22, соответственно);
- j) 326-3B1 CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 17, 62, 19, соответственно); и
CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 20, 21, 22, соответственно); или
- k) 326-3G1 CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 17, 62, 19, соответственно); и
CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 20, 21, 22, соответственно).

2. Способ по п. 1, где антагонист PD-1 представляет собой антитело, которое содержит переменную область тяжелой цепи (Vh) и переменную область легкой цепи (Vk), содержащие:

a) mu317 (SEQ ID NO: 4 и 6, соответственно);	p) 317-3H1 (SEQ ID NO: 69 и 26, соответственно);
b) mu326 (SEQ ID NO: 8 и 10, соответственно);	q) 317-311 (SEQ ID NO: 70 и 26, соответственно);
c) 317-4B6 (SEQ ID NO: 24 и 26, соответственно);	
d) 326-4A3 (SEQ ID NO: 28 и 30, соответственно);	r) 317-4B1 (SEQ ID NO: 71 и 26, соответственно);
e) 317-4B2 (SEQ ID NO: 43 и 44, соответственно);	s) 317-4B3 (SEQ ID NO: 72 и 26, соответственно);
f) 317-4B5 (SEQ ID NO: 45 и 46, соответственно);	t) 317-4B4 (SEQ ID NO: 73 и 26, соответственно);

соответственно);	соответственно);
g) 317-1 (SEQ ID NO: 48 и 50, соответственно);	u) 317-4A2 (SEQ ID NO: 74 и 26, соответственно);
h) 326-3B1 (SEQ ID NO: 51 и 52, соответственно);	v) 326-3A1 (SEQ ID NO: 75 и 30, соответственно);
i) 326-3GI (SEQ ID NO: 53 и 54, соответственно);	w) 326-3C1 (SEQ ID NO: 76 и 30, соответственно);
j) 326-1 (SEQ ID NO: 56 и 58, соответственно);	x) 326-3D1 (SEQ ID NO: 77 и 30, соответственно);
k) 317-3A1 (SEQ ID NO: 64 и 26, соответственно);	y) 326-3E1 (SEQ ID NO: 78 и 30, соответственно);
l) 317-3C1 (SEQ ID NO: 65 и 26, соответственно);	z) 326-3F1 (SEQ ID NO: 79 и 30, соответственно);
m) 317-3E1 (SEQ ID NO: 66 и 26, соответственно);	aa) 326-3B N55D (SEQ ID NO: 80 и 30, соответственно);
n) 317-3F1 (SEQ ID NO: 67 и 26, соответственно);	ab) 326-4A1 (SEQ ID NO: 28 и 81, соответственно) или
o) 317-3G1 (SEQ ID NO: 68 и 26, соответственно);	ac) 326-4A2 (SEQ ID NO: 28 и 82, соответственно).

3. Способ по п. 1, где антагонист PD-1 представляет собой антитело, которое содержит эффекторный или константный домен тяжелой цепи IgG4, содержащий любую из SEQ ID NO: 83-88.

4. Способ по п. 1, где антагонист PD-1 представляет собой антитело, которое содержит F(ab) или F(ab)₂, содержащий домен по п. 2.

5. Способ по п. 1, где антагонист PD-1 представляет собой антитело, которое содержит переменную область тяжелой цепи (V_h), и переменную область легкой цепи (V_k), и эффекторный или константный домен тяжелой цепи IgG4, содержащий SEQ ID NO: 87 или 88, где переменная область тяжелой цепи (V_h) и переменная область легкой цепи (V_k) содержат:

a) mu317 (SEQ ID NO: 4 и 6, соответственно);	p) 317-3H1 (SEQ ID NO: 69 и 26, соответственно);
b) mu326 (SEQ ID NO: 8 и 10, соответственно);	q) 317-3I1 (SEQ ID NO: 70 и 26, соответственно);
c) 317-4B6 (SEQ ID NO: 24 и 26, соответственно);	
d) 326-4A3 (SEQ ID NO: 28 и 30, соответственно);	r) 317-4B1 (SEQ ID NO: 71 и 26, соответственно);
e) 317-4B2 (SEQ ID NO: 43 и 44, соответственно);	s) 317-4B3 (SEQ ID NO: 72 и 26, соответственно);
f) 317-4B5 (SEQ ID NO: 45 и 46, соответственно);	t) 317-4B4 (SEQ ID NO: 73 и 26, соответственно);
g) 317-1 (SEQ ID NO: 48 и 50, соответственно);	u) 317-4A2 (SEQ ID NO: 74 и 26, соответственно);
h) 326-3B1 (SEQ ID NO: 51 и 52, соответственно);	v) 326-3A1 (SEQ ID NO: 75 и 30, соответственно);
i) 326-3GI (SEQ ID NO: 53 и 54, соответственно);	w) 326-3C1 (SEQ ID NO: 76 и 30, соответственно);
j) 326-1 (SEQ ID NO: 56 и 58, соответственно);	x) 326-3D1 (SEQ ID NO: 77 и 30, соответственно);
k) 317-3A1 (SEQ ID NO: 64 и 26, соответственно);	y) 326-3E1 (SEQ ID NO: 78 и 30, соответственно);
l) 317-3C1 (SEQ ID NO: 65 и 26, соответственно);	z) 326-3F1 (SEQ ID NO: 79 и 30, соответственно);
m) 317-3E1 (SEQ ID NO: 66 и 26, соответственно);	aa) 326-3B N55D (SEQ ID NO: 80 и 30, соответственно);
n) 317-3F1 (SEQ ID NO: 67 и 26, соответственно);	ab) 326-4A1 (SEQ ID NO: 28 и 81, соответственно);

соответственно);	соответственно) или
о) 317-3G1 (SEQ ID NO: 68 и 26, соответственно);	ас) 326-4A2 (SEQ ID NO: 28 и 82, соответственно).

6. Способ по п. 1, где антагонист PD-1 представляет собой антитело, которое содержит переменную область тяжелой цепи (Vh), и переменную область легкой цепи (Vk), и эффекторный или константный домен тяжелой цепи IgG4, содержащий SEQ ID NO: 88, где переменная область тяжелой цепи (Vh) и переменная область легкой цепи (Vk) содержат SEQ ID NO: 24 и SEQ ID NO: 26, соответственно.

7. Способ по п. 1, где Соединение 1 находится в кристаллической форме D.

8. Способ по п. 7, где кристаллическая форма D имеет дифрактограмму XRPD (порошковая рентгеновская дифрактометрия) по существу такую, как представлено на Фигуре 1A.

9. Способ по п. 1, где рак представляет собой солидный рак или опухоль.

10. Способ по п. 9, где рак выбран из рака легкого, включая немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), рака яичников (РЯ), почечно-клеточного рака (ПКР) или меланомы.

11. Способ по п. 9, где рак представляет собой рак, связанный с мультитирозинкиназой.

12. Способ по п. 9, где рак является резистентным или рефрактерным к ингибитору контрольных точек, выбранному из антитела к PD-1 и/или антитела к PD-L1 (лиганд белка программируемой клеточной смерти 1).

13. Способ по п. 9, где рак представляет собой рак, экспрессирующий PD-L1.

14. Способ по п. 9, где рак выбран по его стадии, включая местно-распространенный, рецидивирующий или метастатический.

15. Способ по п. 10, где рак представляет собой неплоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), эпителиальный рак яичников (РЯ), почечно-клеточный рак (ПКР) или меланому.

16. Способ по п. 15, где неплоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) представляет собой: рефрактерный/резистентный к антителу к PD-1/PD-L1 метастатический неплоскоклеточный НМРЛ; ранее не получавший лечения антителом к PD-1/PD-L1 метастатический неплоскоклеточный НМРЛ или PD-L1-положительный местно-распространенный или метастатический неплоскоклеточный НМРЛ без предварительного системного лечения метастатических форм.

17. Способ по п. 15, где плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) представляет собой: рефрактерный/резистентный к антителу к PD-1/PD-L1 метастатический плоскоклеточный НМРЛ; ранее не получавший лечения антителом к PD-1/PD-L1 метастатический плоскоклеточный НМРЛ или PD-L1-положительный местнораспространенный или метастатический плоскоклеточный НМРЛ без предварительного системного лечения метастатических форм.

18. Способ по п. 15, где почечно-клеточный рак (ПКР) представляет собой рефрактерный/резистентный к антителу к PD-1/PD-L1 метастатический или распространенный ПКР или метастатический или распространенный ПКР без предварительного системного лечения.

19. Способ по п. 15, где меланома представляет собой рефрактерную/резистентную к антителу к PD-1/PD-L1 неоперабельную или метастатическую меланому.

20. Способ по п. 15, где рак яичников (РЯ) представляет собой ранее не получавший лечения рецидивирующий и платино-резистентный эпителиальный РЯ.

21. Способ по любому из пп. 1-6, где антагонист PD-1 вводят парентерально в дозе 30-300 мг один раз в неделю, или один раз в две недели, или один раз в три недели, или один раз в четыре недели.

22. Способ по любому из пп. 1-6, где антагонист PD-1 вводят парентерально в дозе 200 мг один раз в три недели.

23. Способ по любому из пп. 1-7, где Соединение 1 вводят перорально в дозе 40-150 мг один раз в день.

24. Способ по любому из пп. 1-7, где Соединение 1 вводят перорально в дозе 60-150 мг один раз в день.

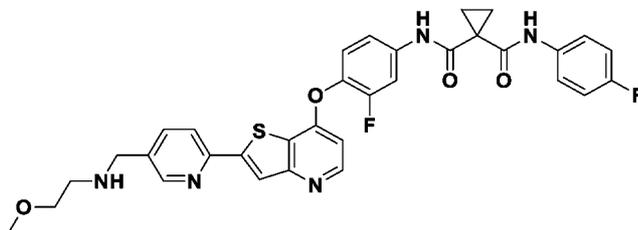
25. Способ по любому из пп. 1-7, где Соединение 1 вводят перорально в дозе 120 мг один раз в день.

26. Способ по любому из пп. 1-7, где Соединение 1 вводят перорально в дозе 120 мг один раз в день в комбинации с антагонистом PD-1 в дозе 200 мг внутривенно один раз в три недели.

27. Фармацевтическая комбинация для применения для предотвращения, замедления прогрессирования или лечения рака, содержащая антагонист PD-1 и ингибитор мультитирозинкиназы, где антагонист PD-1 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с PD-1 человека, содержащее переменную область тяжелой цепи (Vh) и переменную область легкой

цепи (V_k), которые содержат определяющие комплементарность области (CDR), перечисленные ниже:

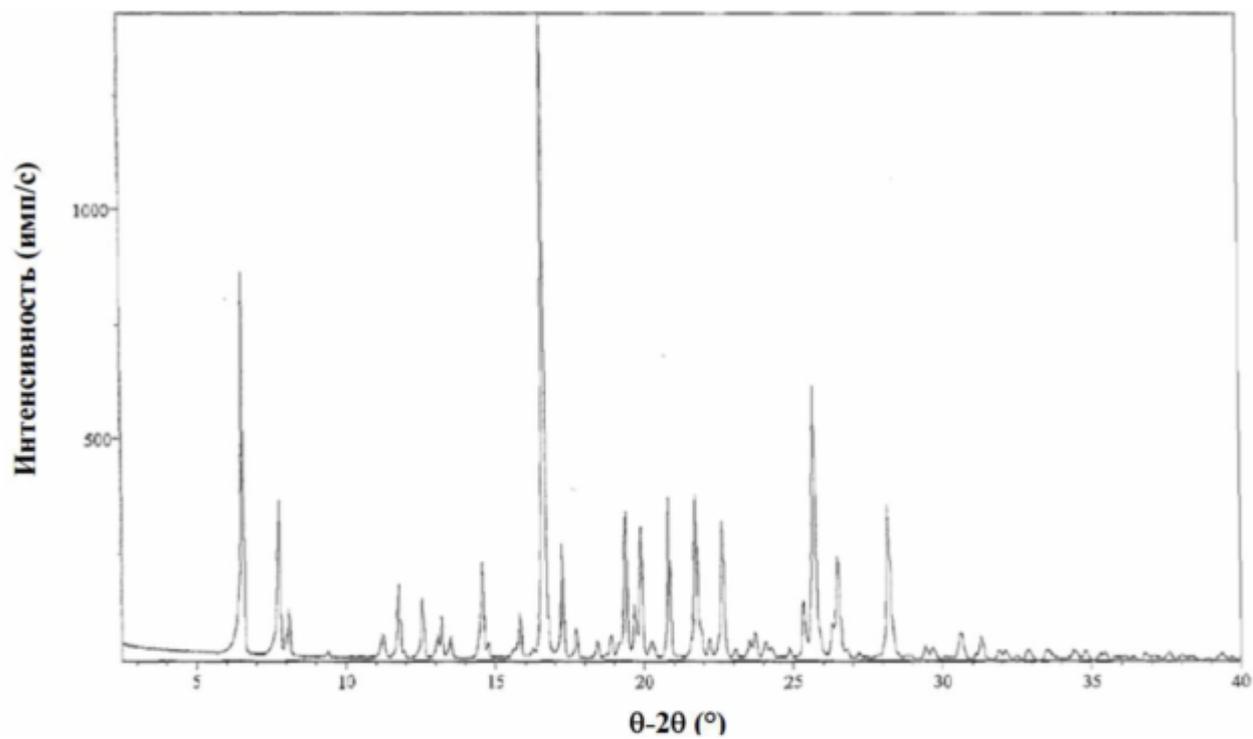
CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (SEQ ID NO: 31, 32, 33, соответственно); и
CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (SEQ ID NO: 34, 35, 36, соответственно); и
где ингибитор мультитирозинкиназы представляет собой Соединение 1,



Соединение 1

или его стереоизомер, или его фармацевтически приемлемую соль.

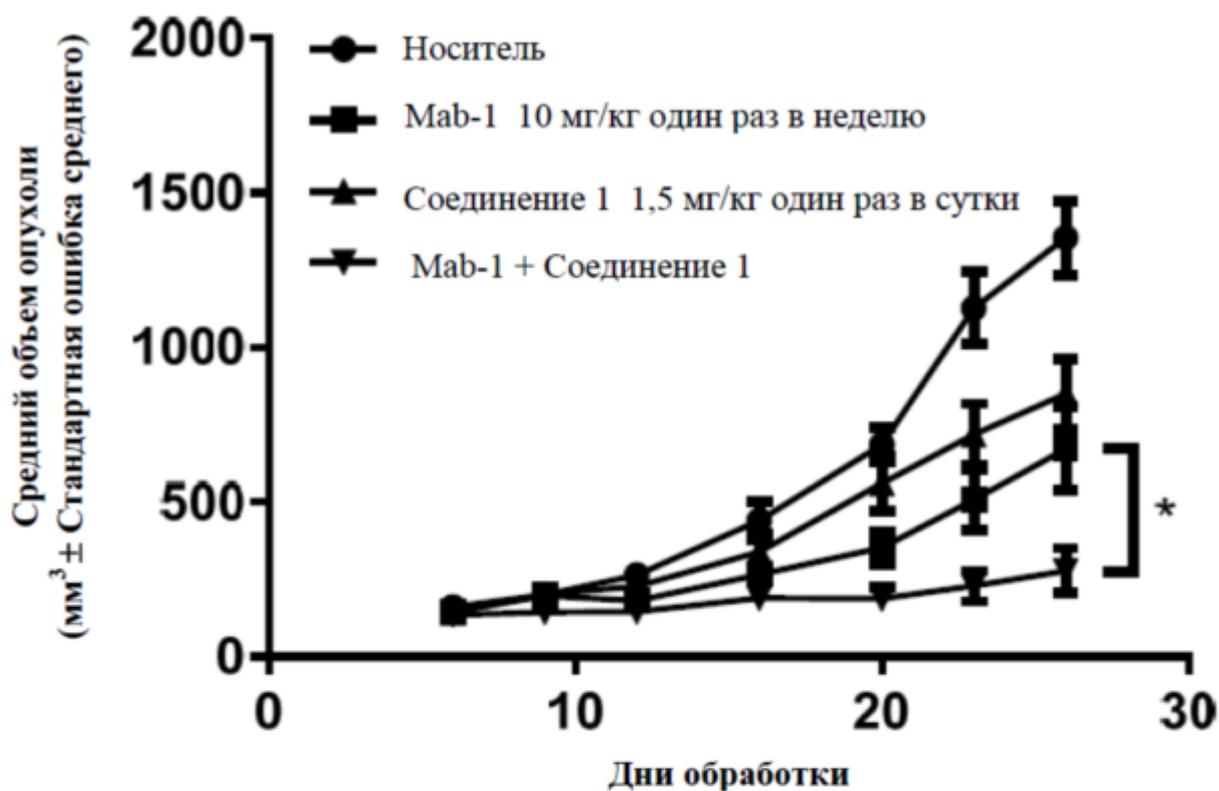
ЛЕЧЕНИЕ РАКА С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМБИНАЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ
ИНГИБИТОР МУЛЬТИТИРОЗИНКИНАЗЫ И ИНГИБИТОР ИММУННЫХ
КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК



Фигура 1А

ЛЕЧЕНИЕ РАКА С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМБИНАЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ
ИНГИБИТОР МУЛЬТИТИРОЗИНКИНАЗЫ И ИНГИБИТОР ИММУННЫХ
КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК

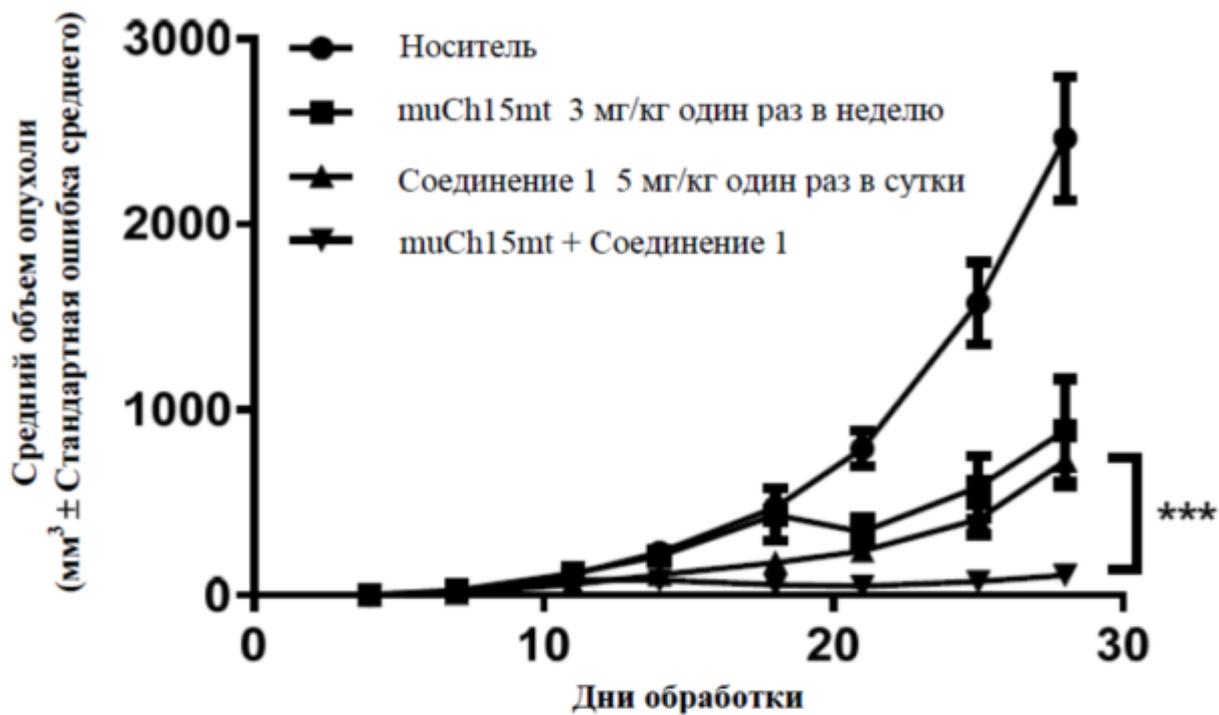
A431



Фигура 2А

ЛЕЧЕНИЕ РАКА С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМБИНАЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ
ИНГИБИТОР МУЛЬТИТИРОЗИНКИНАЗЫ И ИНГИБИТОР ИММУННЫХ
КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК

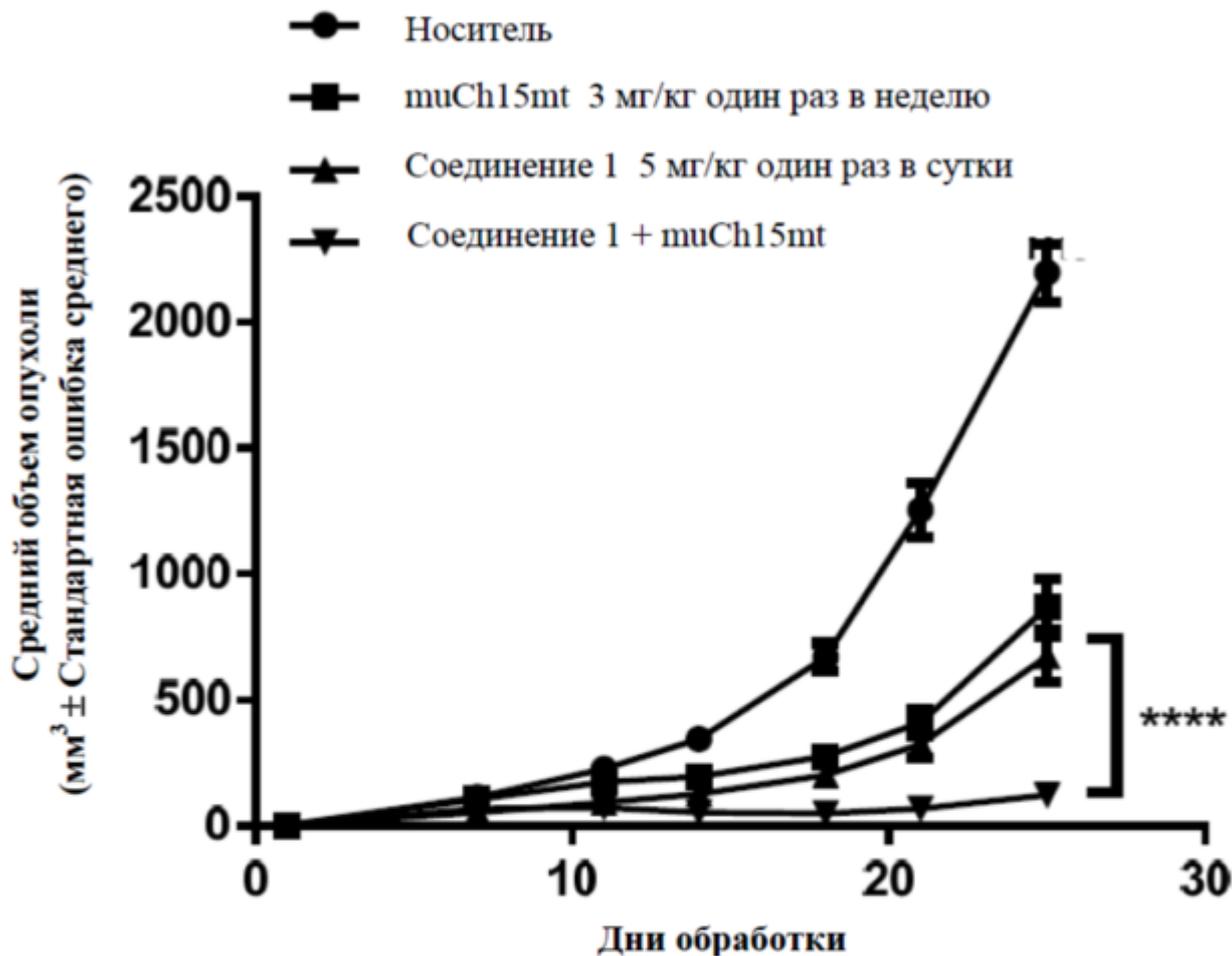
CT26WT



Фигура 2В

ЛЕЧЕНИЕ РАКА С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМБИНАЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ
ИНГИБИТОР МУЛЬТИТИРОЗИНКИНАЗЫ И ИНГИБИТОР ИММУННЫХ
КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК

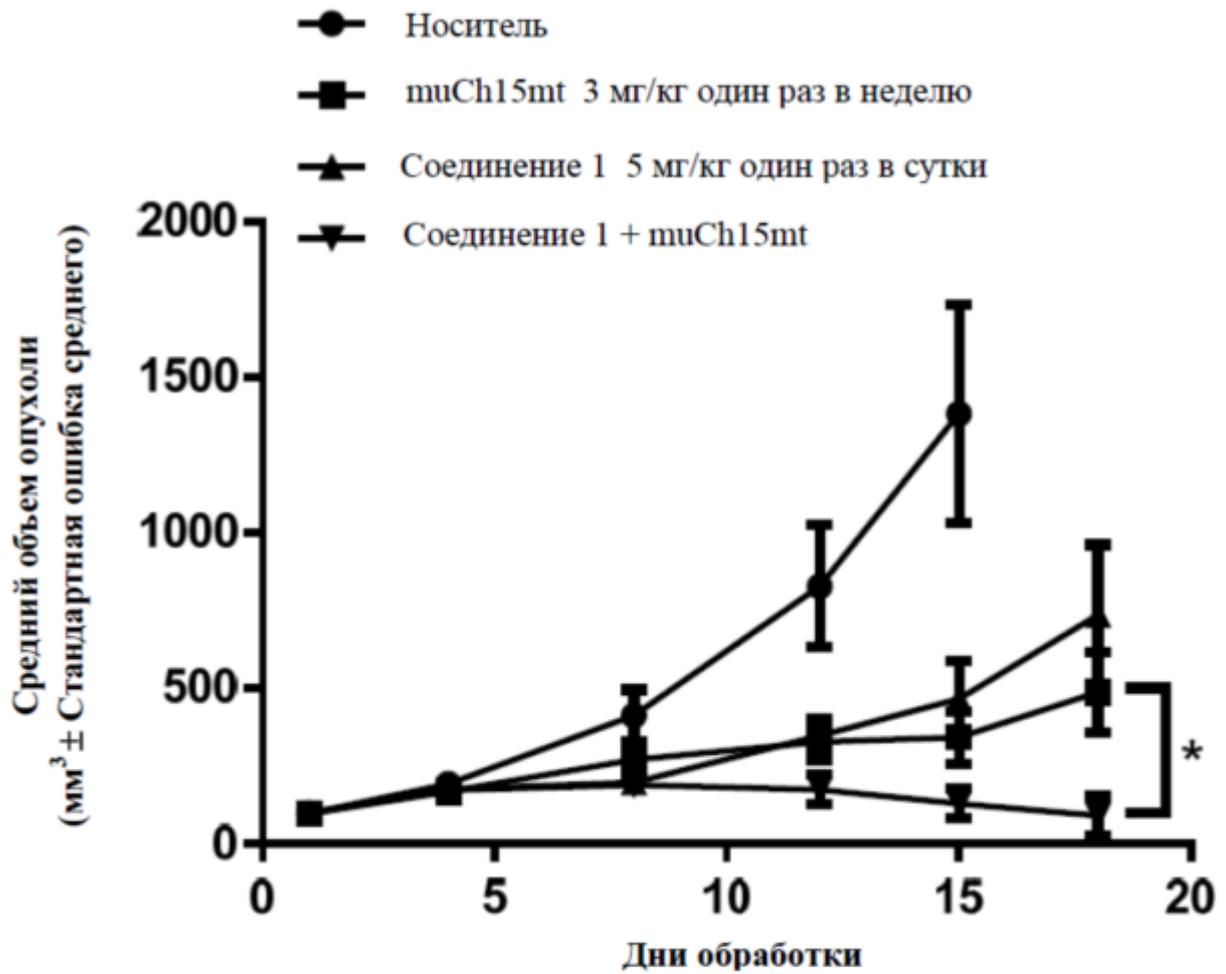
MC38



Фигура 2С

ЛЕЧЕНИЕ РАКА С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМБИНАЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ
ИНГИБИТОР МУЛЬТИТИРОЗИНКИНАЗЫ И ИНГИБИТОР ИММУННЫХ
КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК

A20



Фигура 2D