

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202291424** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
2022.12.22

(51) Int. Cl. *C07D 401/12* (2006.01)  
*C07D 401/14* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2020.12.08

(54) **ИНГИБИТОРЫ ЛИЗИН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ГИСТОНДЕМЕТИЛАЗЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ**

(31) 62/945,609; 63/121,461

(72) Изобретатель:  
**Риенхофф Хью (US)**

(32) 2019.12.09; 2020.12.04

(33) US

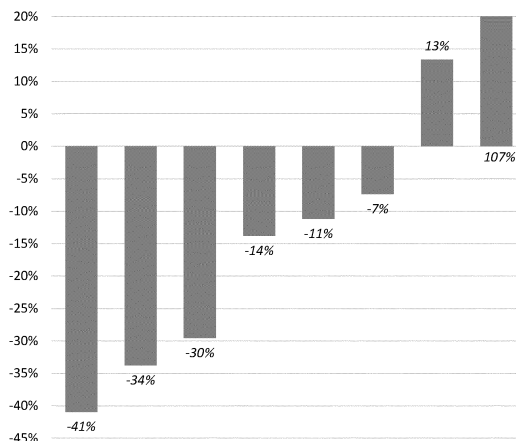
(74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

(86) PCT/US2020/063773

(87) WO 2021/118996 2021.06.17

(71) Заявитель:  
**ИМАГО БАЙОСАЙЕНСЕС, ИНК.  
(US)**

(57) В изобретении раскрыты способы лечения или профилактики миелопролиферативных новообразований у субъекта, нуждающегося в этом, и воздействия на специфические клинически релевантные конечные точки, предусматривающие введение терапевтически эффективного количества ингибитора LSD1.



**202291424  
A1**

**202291424  
A1**

## ИНГИБИТОРЫ ЛИЗИН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ГИСТОНДЕМЕТИЛАЗЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

### Описание

[001] Согласно настоящей заявке испрашивается приоритет в соответствии с предварительной заявкой на выдачу патента США № 62/945609, поданной 9 декабря 2019, и предварительной заявкой на выдачу патента США № 62/121641, поданной 4 декабря 2020, которые включены в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте, как если бы они были раскрыты в настоящем документе полностью.

[002] Миелопролиферативные новообразования (MPN) подставляют собой семейство заболеваний, которое включает истинную полицитемию (PV), эссенциальную тромбоцитемию (ЕТ) и миелофиброз (MF), это отдельное семейство гемопэтических нарушений, вызванных соматическими мутациями, приобретенными мультипотентными гемопэтическими стволовыми клетками/клетками-предшественниками, приводящими к аномалии гематологических нарушений в продукции эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, а также спленомегалии и системным симптомам. MPN имеют общие мутации, которые конститутивно изменяют нормальные физиологические сигналы, ответственные за гемопоэз. Клиническим образом MPN может проявляться как доброкачественная клональная миелопролиферация, но исходная аномальная стволовая клетка/клетка-предшественник восприимчива к новым мутациям и эпигенетическим изменениям, которые обеспечивают быструю эволюцию в недостаточность костного мозга с миелофиброзом или трансформацию в острый миелогенный лейкоз (AML).

[003] Многие пациенты с MPN на момент постановки диагноза не проявляют симптомов. ЕТ, PV и PMF могут маскироваться друг под друга, искажая окончательный диагноз и прогноз. Общие проявления включают утомляемость, потерю веса, ночную потливость, жар, одышку и желудочно-кишечный дискомфорт из-за иногда массивной спленомегалии. Три нарушения MPN фенотипически перекрываются и даже имеют сходство с другими миелоидными новообразованиями.

Специфическая точечная мутация в *JAK2* (*JAK2<sup>V617F</sup>*), а также мутации в кальретикулине (*CALR*) и рецепторе тромбопоэтина (*MPL*) обнаружены у 90% пациентов с MPN. Хотя распределение этих мутаций неодинаково среди PV, ЕТ и первичного MF (PMF), они диагностически не определяют конкретное MPN или его прогноз и не являются взаимоисключающими. Здоровые индивидуумы могут нести одну из этих мутаций без развития MPN, и действительно, некоторые из этих мутаций могут передаваться как мутации зародышевой линии, приводящие к наследственным формам MPN. ЕТ, PV и PMF, тем не менее, рассматриваются как отдельные клинические единицы, каждая из которых основана на отдельной эпидемиологии, естественном течении и молекулярном профиле. PV является наиболее распространенным MPN и, по-видимому, является фенотипическим проявлением мутаций в *JAK2*. PV является единственным MPN, характеризующимся эритроцитозом, определяемым как гематокрит  $\geq 60\%$  и гемоглобин  $\geq 20$  г/дл. ЕТ характеризуется устойчивым количеством тромбоцитов  $>450000$ /мкл и встречается преимущественно у индивидуумов женского пола. MF, первичный или вторичный миелофиброз, но иногда называемый миелофиброзом с миелоидной метаплазией, агногенной миелоидной метаплазией или первичным миелосклерозом, представляет собой хронический

воспалительный процесс, при котором избыток коллагена откладывается в костном мозге, приводя к нарушению гемопоэза в сочетании с фиброзом костного мозга и экстрамедуллярным гемопоэзом.

[004] Основные осложнения возникают из-за цитопении на фоне недостаточности костного мозга, экстрамедуллярного гемопоэза, главным образом в селезенке и печени, и прогрессирования в острый миелолейкоз. Для пациентов спленомегалия является наиболее неприятным осложнением первичного миелофиброза, приводящим к механическому дискомфорту, голоданию, инфаркту селезенки, портальной и легочной гипертензии и секвестрации клеток крови. Как ET, так и PV осложняются тромбозом. ET и PV могут прогрессировать в MF, а также в AML.

[005] Многие другие соматические мутации, обнаруженные при MPN, также присутствуют при миелодиспластическом синдроме (MDS) и AML *de novo*, они включают мутации в *DNMT3A*, *IDH1/2*, *TET2*, *ASXL1*, *EZH2*, *TP53*, *NF1*, *NRAS*, *KRAS*, *SF3B1*, *U2AF1*, *SRSF2* и *RUNX1*. Этот общий мутационный спектр способствует фенотипическому перекрытию этих нарушений, а также влияет на их естественное течение, включая прогрессирование в недостаточность костного мозга или AML.

[006] Специфического лечения первичного миелофиброза, эссенциальной тромбоцитемии или истинной полицитемии не существует. Существующие в настоящее время способы лечения существенно не изменяют естественное течение болезни и, таким образом, направлены в первую очередь на облегчение симптомов. Анемия, связанная с уровнем эритропоэтина (ЕРО) <100 мЕд/мл, может отвечать на терапию рекомбинантным ЕРО, но связана с увеличением гепатоспленомегалии. Преднизолон может быть эффективен у пациентов с признаками активного воспаления или аутоиммунного заболевания. Гиперурикемия подлежит лечению аллопуринолом. Неселективный ингибитор JAK1/2 руксолитиниб одобрен для лечения пациентов с промежуточным MF 1 и 2 и MF высокого риска, а также пациентов с PV высокого риска. Руксолитиниб эффективен для облегчения системных симптомов и уменьшения размера или объема селезенки на 35% приблизительно у 50% пациентов. Руксолитиниб показал увеличение выживаемости и снижение аллельной нагрузки *JAK<sup>V617F</sup>* у пациентов с высоким риском первичного MF (PMF). У некоторых пациентов руксолитиниб приводит к усугублению анемии, но тромбоцитопения, даже если она тяжелая, может быть улучшена. Руксолитиниб эффективен только во время введения лекарственного средства, симптомы будут повторяться после прекращения приема лекарственного средства. Воздействие на фиброз в костном мозге не происходит, и руксолитиниб не влияет на мутационную нагрузку. Талидомид при дозах от 50 до 100 мг/день в сочетании с преднизолоном эффективен в отношении облегчения анемии и тромбоцитопении приблизительно у 60% пациентов с первичным миелофиброзом и уменьшения размера селезенки приблизительно у 20%. Интерферон-α при низких дозах для уменьшения спленомегалии может быть эффективен на ранних стадиях заболевания, но может вызывать цитопению. Пегилированный интерферон может вызвать молекулярную ремиссию при PV и обратить вспять миелофиброз при PMF у меньшинства пациентов. Гидроксикарбамид имеет низкую частоту острой токсичности, но вызывает недостаточность костного мозга и является лейкемогенным. Низкие дозы алкилирующих агентов могут уменьшать органомегалию, обращать вспять фиброз костного мозга и улучшать показатели крови, но лишь изредка оказывают длительное действие, алкилирующие агенты могут вызывать серьезную недостаточность костного мозга и являются лейкемогенными. Единственным потенциально излечивающим способом лечения является аллогенная трансплантация костного мозга, показанная пациентам

моложе 65 лет с промежуточным или высоким баллом DIPSS, для которых есть подходящий донор. Пятилетняя выживаемость после трансплантации стволовых клеток составляет в среднем приблизительно 50%.

[007] Эпигенетические модификации ДНК, такие как метилирование цитозина, или посттрансляционные модификации гистонов, такие как метилирование и ацетилирование, влияют на экспрессию генов посредством изменения структуры хроматина. Изменения в паттернах экспрессии генов могут изменить фенотип данной клетки. Мутации в *DNMT3A* и *TET2* связаны с изменениями нормальных паттернов метилирования цитозина в ДНК, в то время как мутации в *JAK2*, *EZH2* и *ASXL1* изменяют состояние метилирования, ацетилирования и фосфорилирования гистонов: оба эти класса изменений изменяют паттерны нормальных программ экспрессии генов. Мутации в генах, кодирующих белки, влияющие на эпигенетическое состояние клеток, позволяют предположить, что воздействие на ферментативную функцию таких белков может избирательно устранять злокачественные стволовые клоны/клоны-предшественники и/или восстанавливать их нормальный фенотип.

[008] Лизин-специфическая деметилаза 1 (LSD1, также известная как KDM1A) представляет собой фермент, удаляющий моно- и диметильные группы гистона (H) H3 в критических лизинах (K), K4 и K9 (Shi et al., 2004). Метилирование гистонов H3K4 и H3K9 представляет собой посттрансляционную модификацию, связанную с изменением показателей гена. В силу изменения локального состояния хроматина LSD1 является эпигенетическим регулятором экспрессии генов. Лизиновые (K) сайты гистона H3 и степень метилирования этих сайтов (1, 2 или 3 метильные группы) связаны со специфическими функциями, например, энхансеры и суперэнхансеры характеризуются метками H3K4me1, тогда как H3K4me2 чаще обнаруживаются в проксимальных промоторах и энхансерах активно транскрибируемых генов.

[009] LSD1 локализуется в трех основных областях генома: энхансерах и суперэнхансерах, проксимальных промоторах и внутренних областях единиц транскрипции посредством действия белков, которые напрямую связываются с ДНК, обычно TF. Многие TF, как активаторы, такие как Гомолог вирусного онкогена миелобластома птиц V-Myb (MYB), так и рецепторы стероидных гормонов, а также репрессоры, такие как независимый от фактора роста 1 репрессор транскрипции (GF11), рекрутируют LSD1 в определенные геномные местоположения. LSD1 является частью более крупного белкового комплекса, содержащего, например, транскрипционный фактор сайленсинга Co-RE 1 (CoREST) или комплекс ремоделирования нуклеосом и гистондеацетилазы (NuRD), которые диктуют клеточно-специфическое ремоделирование хроматина. Эти комплексы могут также включать активность DNMT1 и гистондеацетилазы 1, 2 и 3 (HDAC1, 2 и 3), каждая из которых способствует поддержанию или модификации эпигенетического состояния в этом геномном сайте. Таким образом, важным свойством LSD1 помимо ее собственной ферментативной активности является ее функция в качестве каркаса для других эпигенетических ферментов, которые рекрутируются совместно с геномными сайтами. Среди многих гистондеацетилаз LSD1 уникально использует флавинаденидинуклеотид (FAD) для окислительного удаления одной или двух метильных групп в процессе производства H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и формальдегида. Таким образом, FAD является важным кофактором активности LSD1. Другие 33 гистонлизиндеметилазы, типы Jumonji, используют железозависимый механизм для удаления метильных групп из гистоновых лизинов.

[010] LSD1 является важным геном, потеря активности LSD1 приводит к ранней эмбриональной летальности. Белок также необходим для регулирования баланса между самообновлением и пролиферацией.

Условный нокадаун LSD1 in vivo (KD) с использованием индуцируемой доксициклином короткой шпильки LSD1 (shLSD1) установил, что LSD1 является центральным регулятором гемопоэтических стволовых клеток (HSC) и миелоидных клеток-предшественников. KD LSD1 приводил к глубокой, но обратимой тромбоцитопении, нейтропении и анемии, число моноцитов было увеличено. KD LSD1 в течение 27 дней приводил к увеличению количества циркулирующих мультипотентных предшественников (MPP) и HSC с сопутствующим подавлением хемокинового (мотив C-X-C) рецептора 4 (CXCR4), не влияя на размер спящего пула HSC. Нарушение самообновления наблюдалось в долгоживущих HSC через 12 недель после удаления LSD1 с использованием индуцируемой Cre системы (мыши Mx1Cre×мыши Lsd1fl/fl), что согласуется с ингибированием LSD1, управляющим дифференцировкой.

[011] LSD1 играет ключевую роль в регуляции перехода от плюрипотентности к терминальной дифференцировке. LSD1 рекрутируется на промоторы «высокой достоверности» и суперэнхансеры генов, необходимых для нормального развития, с помощью «основных» факторов транскрипции, октамер-связывающего фактора транскрипции 4 (OCT4), SRY (определяющий пол участок Y)-box 2 (SOX2), Nanog и коактиватора Mediator. Хотя это и не обязательно для поддержания состояния эмбриональных стволовых клеток (ESC), как часть комплекса NuRD, LSD1 «выводит из эксплуатации» энхансеры генов, направляющих программу плюрипотентности, обеспечивающую дифференцировку ESC. LSD1 необходима для полного отключения программы экспрессии генов ESC, когда клетки переходят в более дифференцированные клеточные состояния. Роль, которую LSD1 играет в ESC, феноменологически подобна основной роли, которую LSD1 играет во время миелоидного гематопоза, при котором энхансеры, активные в HSC, генерирующих сигнатуру экспрессии генов стволовых клеток, также «выводятся из эксплуатации», что позволяет предшественникам приобретать признаки специфических миелоидных линий. Энхансеры, необходимые для терминальной дифференцировки в линии специфических клетках-предшественниках, готовы к активации с помощью меток H3K4me1, в то время как промоторы характеризуются прогрессивным метилированием H3K4, достигающим кульминации в H3K4me3. Ацетилирование энхансера H3K27 блокирует активацию транскрипции и приобретение признаков линии. В соответствии с необходимостью стабильного метилирования H3K4 в ходе дифференцировки, экспрессия LSD1 резко снижается по мере того, как миелоидная дифференцировка достигает терминальных клеточных состояний. Фермент LSD1 находится на вершине миелоидного гематопоза. LSD1 предотвращает миелоидную дифференцировку в стволовых и миелоидных клетках-предшественниках, но подавляется, поскольку клетки приобретают признаки специфических миелоидных линий (эритроидные, гранулоцитарные и мегакариоцитарные). Ингибирование LSD1 в клетках острого миелоидного лейкоза вызывает потерю потенциала стволовых клеток (клоногенность) и сопутствующую индукцию дифференцировки в более зрелый моноцитарный иммунофенотип. На мышинных моделях миелопролиферативного новообразования лечение ингибиторами LSD1 уменьшает популяцию мутантных клеток-предшественников, что соответствует роли, которую LSD1 играет в поддержании фенотипа самообновления.

[012] Являясь ключевым фактором регуляции миелоидного созревания, LSD1 подходит в качестве мишени для различных миелопролиферативных новообразований. Есть три основных миелопролиферативных новообразования, которые можно лечить с помощью ингибитора LSD1: истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз (или миелофиброз на фоне PV и ET), другие MPN, которые также можно лечить раскрытыми в настоящем документе способами, раскрыты ниже. Другие MPN включают ALL,

начинающийся как клональные нарушения в результате соматических мутаций, возникающих в гемопоэтических стволовых клетках/клетках-предшественниках. Клиническое совпадение между этими родственными заболеваниями отражается их общим генетическим спектром соматических мутаций, включая мутации в *JAK2*, *DNMT3A*, *MPL*, *CALR* и *ASXL1*. На мышинных моделях миелофиброза (*Jak2<sup>V617F</sup>* и *Mpl<sup>W515L</sup>*) ингибирование LSD1 вызывает значительное улучшение пяти параметров заболевания: снижение количества тромбоцитов, снижение спленомегалии, снижение количества эритроцитов, излечение фиброза костного мозга и снижение нагрузки мутантных клеток.

[013] Среди BCR-ABL-отрицательных миелопролиферативных новообразований, первичные миелофиброз и миелофиброз на фоне PV/ET (PPV-MF и PET-MF) связаны с самой высокой степенью заболеваемости и смертности, включая прогрессирующий фиброз костного мозга (BM) и, как следствие, недостаточность BM. Хотя ингибитор JAK руксолитиниб в настоящее время одобрен для лечения спленомегалии и системных симптомов, связанных с MF, терапия ингибиторами JAK не снижает популяцию JAK2-мутантных клеток у пациентов с MF. Ограниченная способность ингибирования JAK вызывать клинически значимые молекулярные ответы у пациентов с MPN подчеркивает необходимость разработки более эффективных способов лечения этих JAK-киназы/STAT-зависимых злокачественных новообразований.

[014] Недавние исследования показали, что лизин-специфическая гистондеметилаза, LSD1 (KDM1A), участвует в балансе гемопоэтических стволовых клеток/клеток-предшественников между пролиферацией и дифференцировкой в естественных условиях, влияя на характерные для конкретного состояния паттерны экспрессии генов. В физиологическом кроветворении LSD1 необходим для нормальной миелоидной дифференцировки, затрагивающей эритроидные, мегакариоцитарные и гранулоцитарные линии, но не моноцитарную/дендритную линию. Низкомолекулярные ингибиторы LSD1 продемонстрировали многообещающие результаты на доклинических моделях острого миелолейкоза (AML) и солидной опухоли, а недавно были проведены клинические испытания при AML. Однако роль и потребность в LSD1 в патогенезе MPN и терапевтическом нацеливании на LSD1 при MPN являются областью текущих исследований.

[015] В WO 2012/107498 раскрыто применение определенных ингибиторов LSD1 для лечения миелопролиферативных нарушений, отрицательных по филадельфийской хромосоме, эссенциальной тромбоцитемии, миелофиброза и истинной полицитемии. В US 2016/0257662 и US 2016/0237043 раскрыты соединения, которые ингибируют LSD1. В US 2019/0070172 раскрыто применение этих и других соединений при лечении миелопролиферативных новообразований, включая ET, MF и PV.

[016] Однако сохраняется потребность в мощных ингибиторах LSD1 с продемонстрированной способностью лечения миелофиброза и других миелопролиферативных новообразований и сопутствующих симптомов, а также достижения специфических, клинически значимых конечных точек при лечении миелофиброза и других миелопролиферативных новообразований, избегая серьезных побочных эффектов, таких как тяжелая тромбоцитопения.

#### **Краткое описание чертежей**

[017] На фиг. 1 показано изменение объема селезенки у пациентов, получавших лечение ингибитором LSD1 Соединением 1, от дня 0 до дня 84 лечения.

[018] На фиг. 2 показано изменение оценок MPN-10 у пациентов, получавших лечение ингибитором LSD1 Соединением 1, от дня 0 до дня 84 лечения.

[019] На фиг. 3 приведено сравнение лечения ингибитором LSD1 Соединением 1 и оптимальной доступной терапией (BAT) в контексте изменений ответов объема селезенки (SVR) и общей оценки симптомов (TSS) от дня 0 до дня 84 лечения.

[020] На фиг. 4 показано изменение воспалительного цитокина S100A9 на неделе 12 курса лечения ингибитором LSD1 Соединением 1

[021] На фиг. 5 показано изменение воспалительного цитокина RANTES на неделе 12 курса лечения ингибитором LSD1 Соединением 1

[022] На фиг. 6 показано изменение воспалительного цитокина IL-8 на неделе 12 курса лечения ингибитором LSD1 Соединением 1

[023] На фиг. 7 показано изменение циркулирующего фактора роста VEGF на неделе 12 курса лечения ингибитором LSD1 Соединением 1

[024] На фиг. 8 показано изменение циркулирующего фактора роста PDGF-BB на неделе 12 курса лечения ингибитором LSD1 Соединением 1.

[025] На фиг. 9 представлено схематическое изображения терапевтического действия ингибирования LSD1 Соединением 1.

[026] На фиг. 10 показан процент F-клеток шести пациентов, получавших лечение ингибитором LSD1 Соединением 1.

[027] На фиг. 11 показано абсолютное изменение (a) MPN SAF TSS и (b) объема селезенки от (i) дня 0 до (ii) недели 12.

[028] На фиг. 12 показан ход лечения репрезентативного пациента. (a) дневная доза ингибитора LSD1 в мг, (b) объем селезенки в см, (c) оценка симптомов, (d) тромбоциты (левая шкала, к/мкл) и гемоглобин (правая шкала), (e) WBC и нейтрофилы и (f) оценка утомляемости (10 = наихудшая).

#### **Подробное раскрытие настоящего изобретения**

[029] Настоящее изобретение относится к способу лечения миелопролиферативного новообразования у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[030] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу подавления злокачественных миелоидных клеток у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[031] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения концентрации одного или более белковых факторов роста, секретлируемых клетками костного мозга, которые активируют один или более клеточных типов, которые секретируют ретикулин и коллаген, у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[032] Согласно определенным вариантам осуществления один или более белковых факторов роста выбраны из тромбоцитарного фактора роста, фактора роста сосудистого эндотелия, трансформирующего ростового фактора бета 1 и тромбоцитарного фактора 4 (aka CXCL4).

[033] Согласно определенным вариантам осуществления клетки костного мозга, которые активируют один или более клеточных типов, которые секретируют ретикулин и коллаген, представляют собой мегакариоциты.

[034] Согласно определенным вариантам осуществления один или более клеточных типов, которые секретируют ретикулин и коллаген, выбраны из стромальных клеток, и/или фибробластов, и/или миофибробластов костного мозга.

[035] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения концентрации одного или более белковых факторов роста, секретируемых клетками костного мозга, которые нарушают функцию остеокластов костного мозга снижать количество остеосклероза костного мозга, у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[036] Согласно определенным вариантам осуществления клетки костного мозга, которые нарушают функцию остеокластов костного мозга снижать количество остеосклероза костного мозга у субъекта, представляют собой мегакариоциты.

[037] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения ретикулинового и коллагенового фиброза костного мозга у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[038] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения уровней в плазме одного или более воспалительных цитокинов у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[039] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения нагрузки злокачественных клеток, измеренной посредством частоты мутантного аллеля миелоидных клеток, у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[040] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу элиминации злокачественных миелоидных клеток у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[041] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения патологически повышенной массы эритроцитов у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[042] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения отклоняющегося от нормы размера или объема селезенки у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[043] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения количества экстрamedулярного гемопоэза у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[044] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу улучшения качества жизни (QOL), измеряемого посредством валидированных оценок QOL на основе опроса пациента, у субъекта, нуждающегося в



этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[045] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения системных симптомов миелофиброза, измеренных посредством валидированной оценки симптома на основе формы опроса пациента, у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[046] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу увеличения продолжительности жизни субъекта, страдающего миелофиброзом, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[047] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу задержки или предотвращения прогрессирования миелофиброза до острого миелолейкоза у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[048] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения количества тромбоцитов у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LSD1.

[049] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения клеточности костного мозга до нормальной клеточности в соответствии с возрастом с менее 5% бластных клеток у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[050] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу поддержания количества бластных клеток костного мозга или снижения количества бластных клеток костного мозга до <5% у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

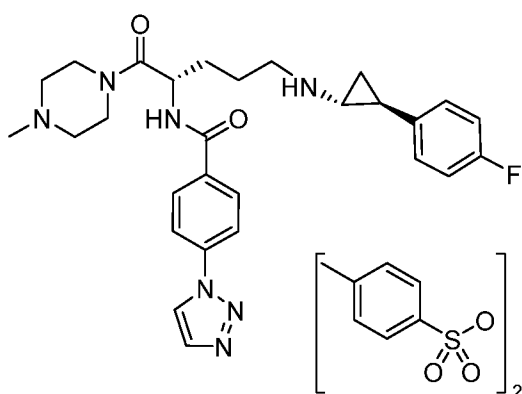
[051] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу повышения гемоглобина до >100 г/л у пациента с MF, предусматривающему введение терапевтически эффективного количества ингибитора LSD1.

[052] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения частоты тромбоза и кровоизлияния у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[053] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения частоты трансфузий эритроцитов у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[054] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу а) снижения гематокрита у пациента мужского пола с PV до <45% или снижения гематокрита у пациента женского пола с PV до ≤42%, б) снижения уровня гемоглобина у пациента с PV до <160 г/л, и/или с) снижения массы эритроцитов у пациента с PV до ≤5,2M/мл, предусматривающему введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[055] Согласно определенным вариантам осуществления каждого из указанных выше способов ингибитор LSD1 представляет собой *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатную соль



(«Соединение 1»).

[056] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу лечения миелопролиферативного новообразования и достижения количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л у субъекта, предусматривающему:

введение начальной дозы 0,5 мг/кг/день Соединения 1,

оценку количества тромбоцитов у субъекта через приблизительно одну неделю,

если количество тромбоцитов составляет  $\geq 90 \times 10^9$  тромбоцитов/л и % сокращения тромбоцитов составляет  $< 50\%$  от предшествующей проверки, тогда добавление 0,2 мг/кг/день Соединения 1 к дневной дозе,

если количество тромбоцитов составляет  $\geq 90 \times 10^9$  тромбоцитов/л и % сокращения тромбоцитов составляет  $\geq 50\%$  от предшествующей проверки, тогда добавление 0,1 мг/кг/день Соединения 1 к дневной дозе,

если количество тромбоцитов составляет от  $40 \times 10^9$  тромбоцитов/л до  $89 \times 10^9$  тромбоцитов/л, тогда поддержание применяемой в настоящее время дневной дозы Соединения 1,

если количество тромбоцитов составляет от  $25 \times 10^9$  тромбоцитов/л до  $39 \times 10^9$  тромбоцитов/л, тогда снижение применяемой в настоящее время дневной дозы в мг/кг Соединения 1 на 25%,

если количество тромбоцитов составляет  $< 25 \times 10^9$  тромбоцитов/л, тогда приостановление введения дозы до тех пор, пока тромбоциты не достигнут  $> 50 \times 10^9$  тромбоцитов/л, а затем введение Соединения 1 при 50% от дозы, которую вводят, когда количество тромбоцитов падает ниже  $25 \times 10^9$  тромбоцитов/л, и

необязательно повторение стадий оценки количества тромбоцитов и регулирования дозы приблизительно каждую неделю до тех пор, пока количество тромбоцитов у субъекта не составит от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

[057] Согласно определенным вариантам осуществления субъект, нуждающийся в этом, имеет миелопролиферативное новообразование.

[058] Согласно определенным вариантам осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой миелофиброз (MF).

[059] Согласно определенным вариантам осуществления миелофиброз выбран из первичного миелофиброза (PMF), миелофиброза на фоне PV (PPV-MF) и миелофиброза на фоне ET (PET-MF).

[060] Согласно определенным вариантам осуществления миелофиброз представляет собой первичный миелофиброз (PMF).

[061] Согласно определенным вариантам осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой истинную полицитемию (PV).

[062] Согласно определенным вариантам осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой эссенциальную тромбоцитемию (ЕТ).

[063] Согласно определенным вариантам осуществления указанный субъект имеет или злокачественные миелоидные клетки субъекта имеют мутацию в одном или более генах, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*) и кальретикулина (*CALR*).

[064] Согласно определенным вариантам осуществления способ дополнительно предусматривает стадию определения имеет ли указанный субъект мутации в одном или более генах, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*) и кальретикулина (*CALR*).

[065] Согласно определенным вариантам осуществления терапевтически эффективное и безвредное количество Соединения 1 представляет собой количество, достаточное для поддержания у субъекта, страдающего миелофиброзом, количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л, или иного количества, описанного ниже. Согласно определенным вариантам осуществления терапевтически эффективное и безвредное количество Соединения 1 представляет собой количество, достаточное для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $75 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

[066] Согласно определенным вариантам осуществления терапевтически эффективное и безвредное количество Соединения 1 представляет собой количество, достаточное для поддержания у пациента, страдающего эссенциальной тромбоцитемией, количества тромбоцитов ниже  $400 \times 10^9$  или иного количества, описанного ниже.

[067] Согласно определенным вариантам осуществления терапевтически эффективное и безвредное количество Соединения 1 представляет собой количество, достаточное для поддержания у пациента, страдающего PV, количества тромбоцитов от приблизительно  $150 \times 10^9$  до приблизительно  $250 \times 10^9$  тромбоцитов/л или иного количества, описанного ниже.

[068] Согласно определенным вариантам осуществления терапевтически эффективное и безвредное количество Соединения 1 составляет от приблизительно 0,5 мг/кг/день до приблизительно 1,5 мг/кг/день.

[069] Согласно определенным вариантам осуществления терапевтически эффективное и безвредное количество Соединения 1 составляет от приблизительно 0,7 мг/кг/день до приблизительно 1,2 мг/кг/день.

[070] Согласно определенным вариантам осуществления терапевтически эффективное и безвредное количество Соединения 1 составляет от приблизительно 40 мг до приблизительно 100 мг в день.

[071] Согласно определенным вариантам осуществления терапевтически эффективное и безвредное количество Соединения 1 составляет от приблизительно 50 мг до приблизительно 85 мг в день.

[072] Согласно определенным вариантам осуществления субъекту вводят начальную дозу 0,5 мг/кг/день Соединения 1, затем через одну неделю:

если количество тромбоцитов составляет  $\geq 90 \times 10^9$  тромбоцитов/л и % сокращения тромбоцитов составляет  $< 50\%$  от предшествующей проверки, тогда к дозе, вводимой субъекту, добавляют 0,2 мг/кг/день Соединения 1 к дневной дозе,

если количество тромбоцитов составляет  $\geq 90 \times 10^9$  тромбоцитов/л и % сокращения тромбоцитов составляет  $\geq 50\%$  от предшествующей проверки, тогда к дозе, вводимой субъекту, добавляют 0,1 мг/кг/день Соединения 1 к дневной дозе,

если количество тромбоцитов составляет от  $40 \times 10^9$  тромбоцитов/л до  $89 \times 10^9$  тромбоцитов/л, тогда дневную дозу Соединения 1 поддерживают,

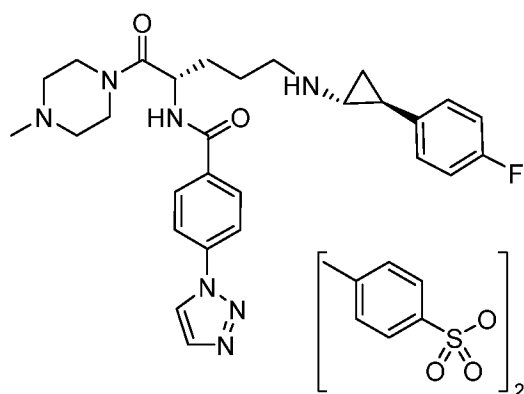
если количество тромбоцитов составляет от  $25 \times 10^9$  тромбоцитов/л до  $39 \times 10^9$  тромбоцитов/л, тогда дозу, вводимую субъекту, регулируют путем снижения применяемой в настоящее время дневной дозы в мг/кг Соединения 1 на 25%,

если количество тромбоцитов составляет  $< 25 \times 10^9$  тромбоцитов/л, тогда приостанавливают введения дозы до тех пор, пока тромбоциты не достигнут  $> 50 \times 10^9$  тромбоцитов/л, а затем дозу, вводимую субъекту, регулируют путем введения Соединения 1 при 50% от дозы, которую вводят, когда количество тромбоцитов падает ниже  $25 \times 10^9$  тромбоцитов/л, и

необязательно приблизительно каждую неделю в ходе курса терапии повторяют стадии оценки количества тромбоцитов и регулирования дозы до тех пор, пока количество тромбоцитов у субъекта не составит от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

[073] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу лечения миелопролиферативного новообразования у субъекта, нуждающегося в этом, где субъект имеет мутантный аллель, причем способ предусматривает:

введение субъекту количества  $N$ -[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



(«Соединение 1»).

[074] Согласно определенным вариантам осуществления мутантный аллель представляет собой аллель одного или более генов, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), такой как *JAK<sup>V617F</sup>*, онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*), такой как *MPL<sup>W515K</sup>*, и кальретикулина (*CALR*), такой как *CALR<sup>S2b\_del</sup>*, *CALR<sup>K385NCX</sup>* или *CALR<sup>KKRK374X</sup>*.

[075] Согласно определенным вариантам осуществления мутантный аллель представляет собой аллель одного или более генов, выбранных из *DNMT3A*, *IDH1/2*, *TET2*, *ASXL1*, *EZH2*, *TP53*, *NF1*, *NRAS*, *KRAS*, *SF3B1*, *U2AF1*, *SRSF2*, *RUNX1*, *CBL*, *ZBTB33*, *PRPF8*, *CNTN5*, *FREM2*, *MAP1B* и.

[076] Согласно определенным вариантам осуществления мутантный аллель представляет собой один или более из *ASXL1<sup>HHCHREAA630X</sup>*, *ASXL1<sup>-642X</sup>*, *ASXL1<sup>Q780\*</sup>*, *ASXL1<sup>R693</sup>*, *ASXL1<sup>-884X\*</sup>*, *ASXL1<sup>-642X</sup>*, *ASXL1<sup>QLL695HX</sup>* и *ASXL1<sup>Q768\*</sup>*.

[077] Согласно определенным вариантам осуществления мутантный аллель представляет собой аллель гена Biorientation Of Chromosomes In Cell Division 1 Like 1 (*BODIL1*).

[078] Согласно определенным вариантам осуществления мутантный аллель представляет собой один или более из BOD1L1<sup>S1623C</sup>, BOD1L1<sup>E1612K</sup>, BOD1L1<sup>K1136N</sup>, BOD1L1<sup>R1074W</sup>, BOD1L1<sup>Y812C</sup>, BOD1L1<sup>E289K</sup> и BOD1L1<sup>R508S</sup>.

#### **Аббревиатуры и определения**

[079] Для облегчения понимания настоящего раскрытия далее приведен ряд терминов и аббревиатур, используемых в настоящем документе, которые определяются следующим образом.

[080] При введении элементов настоящего раскрытия или его предпочтительного варианта (вариантов) осуществления форма единственного числа означает присутствие одного или более элементов. Термины «содержащий», «включающий» и «имеющий» предназначены для включения и означают, что могут быть дополнительные элементы, отличные от перечисленных элементов.

[081] В контексте настоящего изобретения термин «и/или» при использовании в перечне из двух или более элементов означает, что любой из перечисленных элементов может использоваться сам по себе или в сочетании с любым одним или более из перечисленных элементов. Например, выражение «А и/или В» предназначено для обозначения одного или обоих из А и В, т.е. только А, только В или А и В в комбинации. Выражение «А, В и/или С» означает только А, только В, только С, А и В в комбинации, А и С в комбинации, В и С в комбинации или А, В и С в комбинации.

[082] В контексте настоящего изобретения термин «приблизительно», используемый в настоящем документе в отношении измеримого значения, такого как количество соединения, доза, время, температура и т.п., означает, что он охватывает вариации 20%, 10%, 5 %, 1%, 0,5% или даже 0,1% от указанного количества.

[083] В контексте настоящего изобретения термин «терапевтически эффективное количество» лекарственного средства представляет собой такое количество лекарственного средства или его фармацевтически приемлемой соли, которое устраняет, облегчает или обеспечивает излечение заболевания, для лечения которого его вводят, или симптомов заболевания.

[084] В контексте настоящего изобретения термин «безвредное количество» лекарственного средства представляет собой количество лекарственного средства или его фармацевтически приемлемой соли, которое не вызывает дозолимитирующей токсичности или побочных эффектов. Одним из примеров такой токсичности/побочного эффекта является анемия (гемоглобин <8 г/дл), тяжелая тромбоцитопения (количество тромбоцитов <25 тыс/мкл) или тяжелая гранулоцитопения (абсолютное количество нейтрофилов <0,5 тыс/мкл).

[085] В контексте настоящего изобретения термин «субъект, нуждающийся в этом» представляет собой человека или животное, отличное от человека, у которого проявляются один или более симптомов или признаков заболевания.

[086] Когда раскрыты диапазоны значений и используются обозначения «от  $n_1$  ... до  $n_2$ » или «между  $n_1$  ... и  $n_2$ », где  $n_1$  и  $n_2$  представляют собой числа, то, если не указано иное, это указание предназначено для включения самих чисел и диапазона между ними. Этот диапазон может быть целым или непрерывным между конечными значениями и включая их. В качестве примера предполагается, что диапазон «от 2 до 6 атомов углерода» включает два, три, четыре, пять и шесть атомов углерода, поскольку атомы углерода представляют собой целые единицы. Для сравнения, в качестве примера, диапазон «от 1 до 3 мкМ (микромольный)» включает 1 мкМ, 3 мкМ и все значения между ними с любым количеством значащих цифр (например, 1,255 мкМ, 2,1 мкМ,

2,9999 мкМ и т.д.). Когда  $n$  установлено равным 0 в контексте «0 атомов углерода», это предназначено для обозначения связи или нуля.

[087] В соединениях, раскрытых в настоящем документе, присутствуют асимметричные центры. Эти центры обозначаются символами «R» или «S» в зависимости от конфигурации заместителей вокруг хирального атома углерода. Следует понимать, что настоящее изобретение охватывает все стереохимические изомерные формы, включая диастереомерные, энантиомерные и эпимерные формы, а также d-изомеры и l-изомеры и их смеси. Отдельные стереоизомеры соединений могут быть получены синтетическим путем из коммерчески доступных исходных веществ, содержащих хиральные центры, или путем получения смесей энантиомерных продуктов с последующим разделением, например, превращением в смесь диастереомеров с последующим разделением или перекристаллизацией, хроматографическими способами, прямым разделением энантиомеров на хиральных хроматографических колонках или любым другим подходящим способом, известным в данной области техники. Исходные соединения определенной стереохимии либо коммерчески доступны, либо могут быть получены и разделены способами, известными в данной области техники. Кроме того, раскрытые в настоящем документе соединения могут существовать в виде геометрических изомеров. Настоящее изобретение включает все цис-, транс-, син-, анти-, entgegen (E) и zusammen (Z) изомеры, а также их соответствующие смеси. Кроме того, соединения могут существовать в виде таутомеров, все таутомерные изомеры охватываются настоящим изобретением. Кроме того, описанные в настоящем документе соединения могут существовать в несольватированных, а также в сольватированных формах с фармацевтически приемлемыми растворителями, такими как вода, этанол и т.п. Как правило, сольватированные формы считаются эквивалентными нерастворимым формам.

[088] В контексте настоящего изобретения термин «заболевание» в общем является синонимом и используется взаимозаменяемо с терминами «нарушение» и «состояние» (как в случае медицинского состояния), поскольку все они отражают ненормальное состояние организма человека или животного или одной из его частей, которое нарушает нормальное функционирование, обычно проявляется отличительными признаками и симптомами и вызывает у человека или животного снижение продолжительности или качества жизни.

[089] Термин «комбинированная терапия» означает введение двух или более терапевтических средств для лечения терапевтического состояния или нарушения, описанного в настоящем документе. Такое введение включает совместное введение этих терапевтических средств по существу одновременно, например, в одной капсуле с фиксированным соотношением активных ингредиентов или в нескольких отдельных капсулах для каждого активного ингредиента. Кроме того, такое введение также включает последовательное применение каждого типа терапевтического средства. В любом случае схема лечения будет обеспечивать благоприятные эффекты комбинации лекарственных средств при лечении описанных в настоящем документе состояний или нарушений.

[090] Термин «терапевтически приемлемый» относится к тем соединениям (или солям, пролекарствам, таутомерам, цвиттер-ионным формам и т.д.), которые подходят для применения при контакте с тканями пациентов без чрезмерной токсичности, раздражения и аллергической реакции, соизмеримы с разумным соотношением польза/риск и эффективны при использовании по назначению.

[091] В контексте настоящего изобретения термин «лечение» пациента охватывает профилактику. Термин «пациент» означает всех млекопитающих, включая человека. Примеры пациентов включают людей, коров, собак, кошек, коз, овец, свиней и кроликов. Предпочтительно пациент представляет собой человека.

[092] Термин «пролекарство» относится к соединению, которое становится более активным *in vivo*. Некоторые раскрытые в настоящем документе соединения могут также существовать в виде пролекарств, как описано в *Hydrolysis in Drug and Prodrug Metabolism: Chemistry, Biochemistry, and Enzymology* (Testa, Bernard and Mayer, Joachim M. Wiley-VHCA, Zurich, Switzerland 2003). Пролекарства описанных в настоящем документе соединений представляют собой структурно модифицированные формы соединения, которые легко подвергаются химическим изменениям в физиологических условиях с получением соединения. Кроме того, пролекарства могут быть превращены в соединение химическими или биохимическими способами в среде *ex vivo*. Например, пролекарства могут медленно превращаться в соединение при помещении в резервуар трансдермального пластыря с подходящим ферментом или химическим реагентом. Пролекарства часто полезны, потому что в некоторых ситуациях их легче вводить, чем соединение или исходное лекарственное средство. Они могут, например, быть биодоступными при пероральном введении, в то время как исходное лекарственное средство не является таковым. Пролекарство также может иметь улучшенную растворимость в фармацевтических композициях по сравнению с исходным лекарственным средством. В данной области техники известно большое разнообразие производных пролекарств, таких как производные, основанные на гидролитическом расщеплении или окислительной активации пролекарства. Примером пролекарства без ограничения может быть соединение, которое вводится в виде сложного эфира («пролекарство»), но затем метаболически гидролизуется до карбоновой кислоты, активного вещества. Дополнительные примеры включают пептидные производные соединения.

[093] Раскрытые в настоящем документе соединения могут существовать в виде терапевтически приемлемых солей. Настоящее изобретение включает соединения, перечисленные выше, в форме солей, включая соли присоединения кислоты. Подходящие соли включают соли, образованные как с органическими, так и с неорганическими кислотами. Такие соли присоединения кислоты обычно являются фармацевтически приемлемыми. Однако соли нефармацевтически приемлемых солей могут быть полезны при получении и очистке рассматриваемого соединения. Также могут образовываться соли присоединения основания, которые являются фармацевтически приемлемыми. Более полное описание получения и выбора солей приведено в *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use* (Stahl, P. Heinrich. Wiley-VCHA, Zurich, Switzerland, 2002).

[094] В контексте настоящего изобретения термин «терапевтически приемлемая соль» представляет собой соли или цвиттер-ионные формы соединений, раскрытых в настоящем документе, которые являются водорастворимыми или диспергируемыми и терапевтически приемлемыми, как определено в настоящем документе. Соли могут быть получены в ходе окончательного выделения и очистки соединений или отдельно путем взаимодействия соответствующего соединения в форме свободного основания с подходящей кислотой. Иллюстративные соли присоединения кислоты включают ацетат, адипат, альгинат, L-аскорбат, аспарат, бензоат, бензолсульфонат (безилат), бисульфат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, диглюконат, формиат, фумарат, гентизат, глутарат, глицерофосфат, гликолят, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, гиппурат, гидрохлорид, гидробромид, гидройодид, 2-гидроксиэтансульфонат (изетионат), лактат, малеат, малонат, DL-манделат, мезитиленсульфонат, метансульфонат, нафтиленсульфонат, никотинат, 2-нафталинсульфонат, оксалат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфонат, пикрат, пивалат, пропионат, пироглутамат,

сукцинат, сульфонат, тартрат, L-тартрат, трихлорацетат, трифторацетат, фосфат, глутамат, бикарбонат, паратолуолсульфонат (п-тозилат) и ундеcanoат. Кроме того, основные группы в раскрытых в настоящем документе соединениях могут быть кватернизованы метил-, этилом-, пропил- и бутилхлоридами, бромидами и йодидами, диметил-, диэтил-, дибутил- и диамилсульфатами, децил-, лаурил-, миристил- и стерилхлоридами, бромидами и йодидами, и бензил- и фенэтилбромидами. Примеры кислот, которые можно использовать для образования терапевтически приемлемых солей присоединения, включают неорганические кислоты, такие как соляная, бромистоводородная, серная и фосфорная, и органические кислоты, такие как щавелевая, малиновая, янтарная и лимонная. Соли также могут образовываться при координации соединений с ионами щелочных металлов или щелочноземельных металлов. Таким образом, настоящее изобретение охватывает натриевые, калиевые, магниевые и кальциевые соли соединений, раскрытых в настоящем документе, и т.п.

[095] Соли присоединения основания могут быть получены в ходе окончательного выделения и очистки соединений посредством реакции карбоксильной группы с подходящим основанием, таким как гидроксид, карбонат или бикарбонат катиона металла, или с аммиаком или органическим первичным, вторичным или третичным амином. Катионы терапевтически приемлемых солей включают литий, натрий, калий, кальций, магний и алюминий, а также нетоксичные катионы четвертичных аминов, таких как аммоний, тетраметиламмоний, тетраэтиламмоний, метиламин, диметиламин, триметиламин, триэтиламин, диэтиламин, этиламин, трибутиламин, пиридин, *N,N*-диметиланилин, *N*-метилпиперидин, *N*-метилморфолин, дициклогексиламин, прокаин, дибензиламин, *N,N*-дибензилфенэтиламин, 1-эфенамин и *N,N'*-дибензилэтилендиамин. Другие типичные органические амины, используемые для образования солей присоединения оснований, включают этилендиамин, этаноламин, диэтанолламин, пиперидин и пиперазин.

[096] Соль соединения может быть получена реакцией соответствующего соединения в форме свободного основания с соответствующей кислотой.

[097] Соединения, раскрытые в настоящем документе, могут существовать в виде полиморфов и других различных твердых форм, таких как сольваты, гидраты и т.п. Соединение может быть полиморфом, сольватом или гидратом соли или свободного основания или кислоты.

[098] Термин «миелопролиферативное новообразование» (MPN) относится к раку крови, который возникает, когда организм вырабатывает слишком много лейкоцитов или эритроцитов или тромбоцитов в результате соматических мутаций, активирующих гормональные сигнальные пути, контролирующие выработку этих типов клеток крови. Это «клональные заболевания гемопоэтических стволовых клеток», принимая во внимание, что неопластические клетки возникают из одного мутантного клона, происходящего из клеток костного мозга (Campregher et al. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2012,34(2):150-5). MPN включают истинную полицитемию (PV), миелофиброз, включая первичный миелофиброз (PMF, включая, согласно определенным вариантам осуществления, как префиброзную/раннюю стадию, так и явную фиброзную стадию) и миелофиброз на фоне PV/ET (PPV-MF и PET-MF), эссенциальную тромбоцитемию (ET), хронический нейтрофильный лейкоз (CNL), хронический эозинофильный лейкоз, без дополнительного уточнения (CEL-NOS) и хронический миелоидный лейкоз (CML), а также другие неклассифицируемые MPN. Для более подробного обсуждения MPN и связанных с ними миелоидных новообразований и острого лейкоза, а также диагностических критериев для PV, ET, PMF и других MPN, см. Arber et al. «The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia», *Blood* 2016, 127(20):2391-2405. Подробное обсуждение диагностики миелофиброза



и критериев ответа см. в Tefferi A et al., "Revised response criteria for myelofibrosis: International Working Group-Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment (IWG-MRT) and European LeukemiaNet (ELN) consensus report," Blood, 122(8):1395-98 (2013).

[099] Следующие аббревиатуры могут использоваться в описании и имеют соответствующие значения.

<b>Аббревиатура</b>	<b>Определения</b>
<, ≤, >, ≥	менее, менее или равно, более, более или равно
±	плюс или минус
AE	нежелательное явление
AML	острый миелолейкоз
BCR-ABL	кластерный регион точечного разрыва Абельсона
°C	градусы Цельсия
CALR	кальретикулин
CD	кластер дифференцировки
cGMP	текущие правила организации производства и контроля качества лекарственных средств
CoREST	сорепрессор RE1-транскрипционного фактора сайленсинга
CXCL	хемокиновый (C-X-C мотив) лиганд
CTCAE	Общие терминологические критерии нежелательных явлений
CV	коэффициент вариации
Д, д	день
DLT	дозолимитирующая токсичность
DNA	дезоксирибонуклеиновая кислота
DNMT	ДНК-метилтрансфераза
DSMC	Комитет по мониторингу данных о безопасности пациентов
ELN	Европейское агентство по лейкозу
EMH	экстремедуллярный гемопоэз
EOS	эозинофил
EPO	эритропоэтин
ET	эссенциальная тромбоцитемия
FAD	флавинадениндинуклеотид
Свободное основание Соединения 1 (Соединение 2)	N-[(2S)-5-{{(1R,2S)-2-(4-фторфенил)циклопропил}амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1H-1,2,3-триазол-1-ил)бензамид, свободное основание
г или гм	грамм
г/дл	грамм на децилитр
GFI1	независимый от фактора роста 1 фактор транскрипции
GFP	зеленый флуоресцирующий белок
GI	желудочно-кишечный
GLP	надлежащая лабораторная практика
GM-CSF	гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор

GMP	Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств
H	гистон
Hb	гемоглобин
HDAC	гистондеацетилаза
HSC	гемопозитическая стволовая клетка
HSCT	трансплантация гемопозитических стволовых клеток
IC	ингибирующая концентрация
ICH	Международный совет по гармонизации
IL	интерлейкин
Соединение 1	N-[(2S)-5-{{(1R,2S)-2-(4-фторфенил)циклопропил}амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1H-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатная соль
вставки/делеции	вставки и делеции
IWG-MRT	Международная рабочая группа по исследованию и лечению миелофиброза
JAK	Янус-киназы
K	лизин
KD	нокдаун
KDM1A	лизиндеметилаза 1A
кг	килограмм
л	литр
LDH	лактатдегидрогеназа
LIC	лейкоз-иницирующая клетка
LPLV	последний визит последнего пациента
LSD1	лизин-специфическая деметилаза 1
LSDi	ингибитор или ингибиторы LSD1
MAO, MAOI	моноаминоксидаза (моноаминоксидазы), ингибитор (ингибиторы) моноаминоксидазы
me, Me	метил, метилирование
мг	миллиграмм
MF	миелофиброз
MF-SAF	Форма оценки симптомов миелофиброза
мл	миллилитр
мл/мин	миллитры в минуту
MPL	онкоген вируса миелопролиферативного лейкоза, рецептор тромбопоэтина
MPN	Миелопролиферативная неоплазия или новообразования
MPP	полипотентный предшественник
MPN-SAF TSS	Общая оценка симптомов на основе формы оценки симптомов миелопролиферативного новообразования

mPНК	информационная РНК
мс	миллисекунды
MYB	Гомолог вирусного онкогена миелобластома птиц V-Myb
NOAEL	наибольшая доза без наблюдаемых нежелательных эффектов
NURD	комплекс ремоделирования нуклеосом и гистондеацетилазы
OMIM	линейное наследование у мужского пола
OPG	остеопротегерин
OS	общая выживаемость
PD	фармакодинамика
PET-MF	миелофиброз на фоне эссенциальной тромбоцитемии
PK	фармакокинетика
PMF	первичный миелофиброз
PPV-MF	миелофиброз на фоне истинной полицитемии
PV	истинная полицитемия
QD	один раз в день
RBC	эритроцит
REST	RE-1 транскрипционный фактор сайленсинга
РНК	рибонуклеиновая кислота
SAE	серьезное нежелательное явление
SD	стандартное отклонение
Sh	короткая шпилька
SOC	стандартное лечение
SOX2	см. SRY
SRY	(определяющий пол участок Y)-box 2, также известный как SOX2
STAT	передатчик сигнала и активатор транскрипции
Tmax	время достижения максимальной концентрации
TCP	транилципромин
TF	транскрипционный фактор
TPO	тромбопоэтин
мкл	микролитр
WBC	лейкоцит
WHO	Всемирная организация здравоохранения

### Составы

[0100] Хотя соединения, раскрытые в настоящем документе, можно вводить в виде исходного химического вещества, их также можно представить в виде фармацевтических составов (эквивалентно

«фармацевтическим композициям»). Соответственно, настоящее изобретение относится к фармацевтическим составам, которые содержат одно или более определенных соединений, раскрытых в настоящем документе, или одну или более их фармацевтически приемлемых солей, сложных эфиров, пролекарств, амидов или сольватов, вместе с одним или более их фармацевтически приемлемыми носителями и необязательно одним или более другими терапевтическими ингредиентами. Носитель (носители) должен быть «приемлемым» в том смысле, что он совместим с другими ингредиентами состава и не вреден для его реципиента. Надлежащий состав зависит от выбранного пути введения. Любые из хорошо известных методик, носителей и вспомогательных веществ могут быть использованы как подходящие и как это понимается в данной области техники, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences. Фармацевтические композиции, раскрытые в настоящем документе, могут быть получены любым способом, известным в данной области техники, например, с помощью обычных процессов смешивания, растворения, гранулирования, приготовления драже, растирания, эмульгирования, инкапсулирования, улавливания или прессования.

[0101] Составы включают составы, подходящие для перорального, парентерального (включая подкожное, внутрикожное, внутримышечное, внутривенное, внутрисуставное, внутриадиipoзное, внутриартериальное, внутричерепное, внутриочаговое, интраназальное, внутриглазное, внутриперикардальное, внутрибрюшинное, внутриплевральное, внутрипростатическое, интраректальное, подоболочечное, внутритрахеальное, внутриопухолевое, внутрипупочное, интравагинальное, внутрипузырное, интравитреальное и интрамедуллярное), интраперитонеального, ректального, местного (включая без ограничения дермальное, трансбуккальное, подъязычное, вагинальное, ректальное, назальное, ушное и глазное), местного, через слизистую оболочку, подъязычного, подкожного, трансмукозального, трансдермального, трансбуккального, чрескожного и вагинального, липосомального введения, в кремах, в липидных композициях, посредством катетера, посредством лаважа, посредством непрерывной инфузии, посредством инфузии, посредством ингаляции, посредством инъекции, посредством местной доставки, посредством локальной перфузии, посредством непосредственной обработки клеток-мишеней или любой их комбинации. Наиболее подходящий путь может зависеть, например, от состояния и нарушения реципиента. Композиции могут быть удобно представлены в виде стандартной лекарственной формы и могут быть получены любым из способов, хорошо известных в области фармации. Как правило, эти способы предусматривают стадию связывания раскрытого в настоящем документе соединения или его фармацевтически приемлемой соли, сложного эфира, амида, пролекарства или сольвата («активного ингредиента») с носителем, который представляет собой один или более вспомогательных ингредиентов. В общем, составы получают путем однородного и тесного связывания активного ингредиента с жидкими носителями или тонкоизмельченными твердыми носителями или и с тем и с другим, а затем, при необходимости, формования продукта в желаемый состав.

[0102] Составы соединений, описанных в настоящем документе, подходящие для перорального введения, могут быть представлены в виде дискретных единиц, таких как твердые или мягкие капсулы, облатки, пастилки или таблетки, каждая из которых содержит заданное количество активного ингредиента, в виде порошка или гранул, в виде сиропа, эликсира, раствора или суспензии в водной или неводной жидкости или в виде жидкой эмульсии типа масло-в-воде, жидкой эмульсии типа вода-в-масле или соединения, диспергированного в липосоме. Активный ингредиент также может быть представлен в виде болюса, электуария или пасты.

[0103] Фармацевтические составы, которые можно использовать перорально, включают таблетки, твердые капсулы, изготовленные из желатина, а также мягкие, запаянные капсулы, изготовленные из желатина и пластификатора, такого как глицерин или сорбит. Таблетки могут быть получены прессованием или формованием, необязательно с одним или более вспомогательными ингредиентами. Прессованные таблетки могут быть получены путем прессования в подходящей машине активного ингредиента в сыпучей форме, такой как порошок или гранулы, необязательно смешанного со связующими, инертными разбавителями или смазывающими, поверхностно-активными или диспергирующими агентами. Формованные таблетки могут быть получены путем формования в подходящей машине смеси порошкообразного соединения, смоченного инертным жидким разбавителем. Таблетки необязательно могут иметь покрытие или надрезы и могут быть составлены таким образом, чтобы обеспечить отсроченное, замедленное или контролируемое высвобождение или всасывание активного ингредиента. Композиции могут дополнительно содержать агент, повышающий растворимость или диспергируемость. Все составы для перорального введения должны быть в дозах, подходящих для такого введения. Твердые капсулы могут содержать активные ингредиенты в смеси с наполнителем, таким как лактоза, связующими веществами, такими как крахмалы, и/или смазывающими веществами, такими как тальк или стеарат магния, и необязательно стабилизаторами. В мягких капсулах активные соединения могут быть растворены или суспендированы в подходящих жидкостях, таких как жирные масла, жидкий парафин или жидкие полиэтиленгликоли. Кроме того, могут быть добавлены стабилизаторы. Ядра драже снабжены подходящими покрытиями. Для этой цели можно использовать концентрированные растворы сахаров, которые могут необязательно содержать гуммиарабик, тальк, поливинилпирролидон, гель карбопол, полиэтиленгликоль и/или диоксид титана, растворы лаков и подходящие органические растворители или смеси растворителей. Красители или пигменты могут быть добавлены к покрытиям таблеток или драже для идентификации или для характеристики различных комбинаций доз активного соединения.

[0104] В зависимости от пути введения соединения или их гранулы или частицы могут быть покрыты материалом для защиты соединений от действия кислот и других природных условий, которые могут инактивировать соединения.

[0105] Соединения могут быть составлены для парентерального введения путем инъекции, например, болюсной инъекции или непрерывной инфузии, либо в тело, либо в место заболевания или раны. Составы для инъекций могут быть представлены в виде стандартной дозированной формы, например, в ампулах или в многодозовых контейнерах, с добавлением консерванта. Композиции могут принимать такие формы, как суспензии, растворы или эмульсии в масляных или водных носителях, и могут содержать способствующие получению состава агенты, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие агенты. Составы могут быть представлены в контейнерах для однократной или многократной дозы, например, в запаянных ампулах и флаконах, и могут храниться в виде порошка или в высушенном замораживанием (лиофилизированном) состоянии, требующем только добавления стерильного жидкого носителя, например, физиологического раствора или стерильной апиrogenной воды непосредственно перед употреблением. Растворы и суспензии для инъекций для немедленного приема можно приготовить из стерильных порошков, гранул и таблеток, описанного выше вида.

[0106] Составы для парентерального введения включают водные и неводные (масляные) стерильные растворы для инъекций активных соединений, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостаты

и растворенные вещества, которые делают состав изотоническим по отношению к крови предполагаемого реципиента, и водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты и загустители. Подходящие липофильные растворители или носители включают жирные масла, такие как кунжутное масло, или синтетические сложные эфиры жирных кислот, такие как этилолеат, или триглицериды, или липосомы. Водные суспензии для инъекций могут содержать вещества, повышающие вязкость суспензии, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, сорбит или декстран. Необязательно суспензия может также содержать подходящие стабилизаторы или агенты, повышающие растворимость соединений, что позволяет приготовить высококонцентрированные растворы. Для введения терапевтического соединения способом, отличным от парентерального введения, может быть необходимо покрыть соединение или совместно ввести соединение с материалом для предотвращения его инактивации (например, с помощью липосомального состава).

[0107] Следует понимать, что в дополнение к ингредиентам, конкретным образом, упомянутым выше, составы, описанные выше, могут включать другие агенты, общепринятые в данной области техники, с учетом рассматриваемого типа состава, например, агенты, подходящие для перорального введения, могут включать ароматизаторы.

[0108] Предпочтительными стандартными лекарственными формами являются те, которые содержат эффективную дозу активного ингредиента, как указано ниже в настоящем документе, или ее соответствующую часть. Согласно определенным вариантам осуществления состав, раскрытый в настоящем документе, вводят один раз в день. Однако составы также могут быть получены для введения с любой частотой введения, включая один раз в неделю, один раз каждые 5 дней, один раз каждые 3 дня, один раз каждые 2 дня, один раз в день, два или более раз в день и т.д. Такую частоту дозирования также поддерживают в течение различной продолжительности времени в зависимости от терапевтического режима. Продолжительность конкретного терапевтического режима может варьироваться от однократного приема до режима, продолжающегося месяцы или годы. Доза и режим дозирования дополнительно обсуждаются ниже.

[0109] Количество активного ингредиента, которое может быть объединено с материалами-носителями для получения однократной лекарственной формы, будет варьироваться в зависимости от подвергаемого лечению субъекта и конкретного способа введения. Подобным образом, точное количество соединения, вводимого пациенту, находится в компетенции лечащего врача. Конкретный уровень дозы для любого конкретного пациента будет зависеть от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, диету, время введения, путь введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных средств, конкретное нарушение, которое подлежит лечению, и тяжесть показаний или состояний, которые подлежат лечению. Кроме того, способ введения может варьироваться в зависимости от состояния и его тяжести.

[0110] В некоторых случаях может быть целесообразно вводить по меньшей мере одно из описанных в настоящем документе соединений (или его фармацевтически приемлемую соль, сложный эфир или пролекарство) в комбинации с другим терапевтическим средством. Только в качестве примера, если одним из побочных эффектов, испытываемых пациентом при приеме одного из соединений согласно настоящему изобретению, является воспаление, то может быть целесообразным введение противовоспалительного средства в комбинации с исходным терапевтическим средством. В качестве альтернативы, только в качестве примера, терапевтическая эффективность одного из соединений, описанных в настоящем документе, может быть усилена введением

адьюванта (т.е. сам по себе адьювант может иметь только минимальное терапевтическое действие, но в сочетании с другим терапевтическим средством общий терапевтический эффект для пациента усиливается). Существует даже вероятность того, что два соединения, одно из соединений, описанных в настоящем документе, и второе соединение, могут вместе обеспечивать желаемый терапевтический эффект, который не может быть достигнут ни одним из них по отдельности. В качестве альтернативы, только в качестве примера, польза для пациента может быть увеличена путем введения одного из соединений, описанных в настоящем документе, с другим терапевтическим средством (также включая терапевтическую схему), которое также имеет терапевтическую пользу. Только в качестве примера, при лечении острого миелогенного лейкоза или серповидно-клеточной анемии, предусматривающем введение одного из соединений, описанных в настоящем документе, повышенный терапевтический эффект может быть достигнут посредством также введения пациенту другого терапевтического средства для лечения серповидно-клеточной анемии или острого миелогенного лейкоза. В любом случае, независимо от заболевания, нарушения или состояния, которое подлежит лечению, общая польза, испытываемая пациентом, может быть просто аддитивной для двух терапевтических средств, или два средства могут оказывать синергетическое терапевтическое действие у пациента.

[0111] Эффективная комбинированная терапия может быть достигнута с помощью одной композиции или фармакологического состава, который включает оба средства, или двух различных композиций или составов одновременно, где одна композиция включает соединение согласно настоящему изобретению, а другая включает второе средство (средства). Альтернативно, терапия может предшествовать или следовать за терапией другим средством с интервалами от минут до месяцев. Введение соединений согласно настоящему изобретению пациенту будет осуществляться в соответствии с общими протоколами введения фармацевтических препаратов с учетом токсичности лекарственного средства, если таковая имеется. Ожидается, что циклы лечения будут повторяться по мере необходимости.

[0112] Конкретные неограничивающие примеры возможных комбинированных терапий включают применение соединений, раскрытых в настоящем документе, со следующими средствами и классами средств: средства, которые ингибируют ДНК-метилтрансферазы, такие как децитабин или 5'-азацитадин, средства, которые ингибируют активность гистондеацетилаз, гистондесумоилаз, гистондеубиквитиназ или гистонфосфатаз, такие как гидроксимочевина, антисмысловые РНК, которые могут ингибировать экспрессию других компонентов белкового комплекса, связанных с сайтом DR в промоторе гамма-глобина, средства, которые ингибируют действие Klf1 или экспрессию *KLF1*, средства, которые ингибируют действие Bcl11a или экспрессию *Bcl11A*, и средства, которые ингибируют развитие клеточного цикла, такие как гидроксимочевина, ага-С или даунорубин, средства, индуцирующие дифференцировку лейкемических клеток, такие как политрансретиноевая кислота (ATRA), и ингибиторы JAK, такие как руксолитиниб (Jakafi/Jakavi), фэдратиниб (Inrebic), цердулатиниб (PRT062070), гандотиниб (LY-2784544), лестауртиниб (CEP-701), момелотиниб (GS-0387, CYP-387) и пакритиниб (SB1518).

[0113] Таким образом, согласно другому аспекту настоящее изобретение относится к способам лечения заболеваний или нарушений у субъекта человека или животного, нуждающегося в таком лечении, предусматривающим введение указанному субъекту количества соединения, раскрытого в настоящем документе, эффективного для уменьшения или предотвращения указанного нарушения у субъекта в комбинации по меньшей



мере с одним дополнительным средством для лечения указанного нарушения, которое известно в данной области техники.

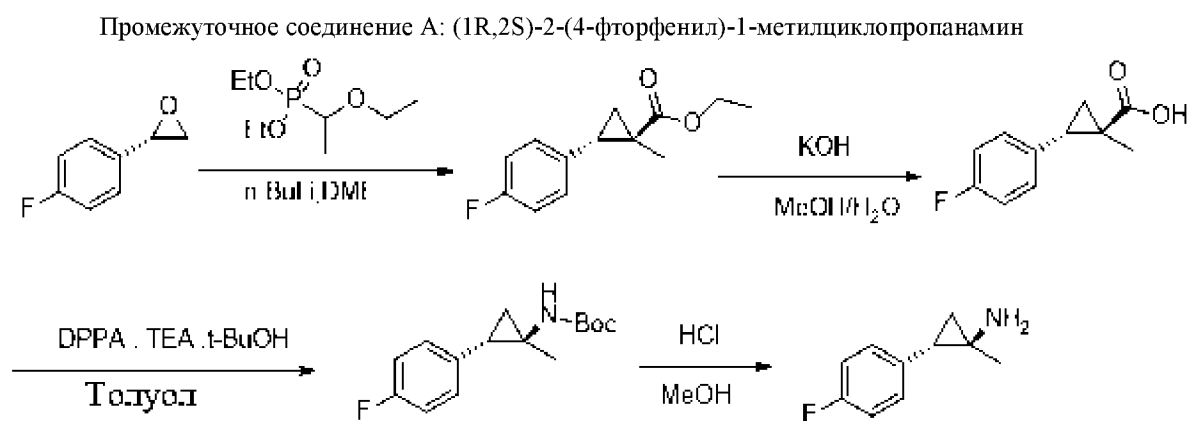
### **Соединения**

[0114] Примеры LSD1-ингибирующих соединений, которые можно применять в способах, раскрытых в настоящем документе, включают приведенные ниже соединения. Другие ингибиторы LSD1 известны в данной области техники.

### **Общие способы синтеза для получения соединений**

[0115] В приведенных ниже примерах и во всем описании могут быть использованы следующие аббревиатуры: PTFE = политетрафторэтилен, RM = реакционная смесь, RH = относительная влажность, RT = комнатная температура, SM = исходное вещество, MeCN = ацетонитрил, ClPh = хлорфенол, DCE = дихлорэтан, DCM = дихлорметан, DIPE = диизопропиловый простой эфир, DMA = диметилацетамид, DMF = диметилформамид, DMSO = диметилсульфоксид, Et<sub>2</sub>O = диэтиловый простой эфир, EtOAc = этилацетат, EtOH = этанол, H<sub>2</sub>O = вода, IPA = пропан-2-ол, i-PrOAc = изопропилацетат, MEK = метилэтилкетон, MeOH = метанол, MIBK = метилизобутилкетон, MTBE = метил-трет-бутиловый простой эфир, n-BuOAc = н-бутилацетат, n-BuOH = н-бутанол, NMP = н-метилпирролидон, n-PrOH = н-пропанол, s-BuOAc = втор-бутилацетат, t-BuOH = трет-бутанол, TFA = трифторуксусная кислота, THF = тетрагидрофуран, TMP = 2,2,4-триметилпентан, <sup>1</sup>H-ЯМР = протонный ядерный магнитный резонанс, DSC = дифференциальная сканирующая калориметрия, DVS = динамическая сорбция паров, GVS = гравиметрическая сорбция паров, ВЭЖХ = высокоэффективная жидкостная хроматография, HS = свободное пространство над продуктом или над жидкостью, HSM = высокотемпературная микроскопия, IC = ионообменная хроматография, IDR = истинная скорость растворения, KF = Карл-Фишер, MAS = вращение под магическим углом, MDSC = модулированная дифференциальная сканирующая калориметрия, PLM = микроскопия в поляризованном свете, PVM = наблюдение и измерение частиц, SCXRD = рентгеноструктурный анализ, SS-ЯМР = твердотельный ядерный магнитный резонанс, TGA = термический гравиметрический анализ, УФ = ультрафиолет, VH-XRPD = рентгеновская порошковая дифрактометрия переменной влажности, VT-XRPD = рентгеновская порошковая дифрактометрия переменной температуры и XRPD = рентгеновская порошковая дифрактометрия. Могут быть использованы другие аббревиатуры, которые известны специалистам в данной области техники.

[0116] Настоящее изобретение проиллюстрировано следующими неограничивающими примерами. Способы, проиллюстрированные ниже, также можно экстраполировать на соединения, раскрытые в настоящей заявке. Другие способы, подходящие для применения для получения примеров настоящего изобретения, можно найти в WO 2015/021128 и WO 2016/130952, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки, как если бы они были раскрыты в настоящей заявке полностью. Дополнительные ингибиторы LSD1 можно получить способами, раскрытыми выше.



[0117] Раствор этил-2-(диэтоксифосфорил)пропаноат (3,45 г, 14,48 ммоль, 2,00 эквив.) в диметиле простом эфире этиленгликоля (20 мл) обрабатывали с применением *n*-BuLi (2,5M) (5,8 мл) по каплям при перемешивании при 0°C. Полученный раствор перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. К нему добавляли 2-(4-фторфенил)оксиран (1 г, 7,24 ммоль, 1,00 эквив.). Полученный раствор перемешивали в течение 12 ч при поддержании температуры при 80°C на масляной бане. Реакционную смесь охлаждали до RT. Затем реакцию гасили путем добавления 20 мл воды. Полученный раствор экстрагировали этилацетатом и органические слои сушили и концентрировали. Остаток хроматографировали на силикагеле и элюировали этилацетатом/петролейным простым эфиром (1:100). Получали 1 г (62%) этил-(1R)-2-(4-фторфенил)-1-метилциклопропан-1-карбоксилат в виде масла желтого цвета. Раствор этил-(1R)-2-(4-фторфенил)-1-метилциклопропан-1-карбоксилата (1 г, 4,50 ммоль, 1,00 эквив.) в метаноле/H<sub>2</sub>O (10/2 мл) и гидроксида калия (1,26 г, 22,46 ммоль, 4,99 эквив.) перемешивали в течение 10 ч при комнатной температуре. Полученный раствор разбавляли H<sub>2</sub>O. Значение pH раствора довели до 2 соляной кислотой (2 моль/л). Полученный раствор экстрагировали этилацетатом и органические слои объединяли и сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Получали 800 мг (92%) (1R)-2-(4-фторфенил)-1-метилциклопропан-1-карбоновой кислоты в виде масла желтого цвета. Раствор (1R)-2-(4-фторфенил)-1-метилциклопропан-1-карбоновой кислоты (400 мг, 2,06 ммоль, 1,00 эквив.) в толуоле (10 мл) смешивали с дифеноксифосфорилизидом (680 мг, 2,47 ммоль, 1,20 эквив.) и триэтиламин (312 мг, 3,08 ммоль, 1,50 эквив.). Полученный раствор перемешивали в течение 30 мин при 90°C на масляной бане. Затем добавляли трет-бутанол (2 мл). Полученный раствор подвергали реакции при перемешивании в течение дополнительных 12 ч при поддержании температуры при 90°C на масляной бане. Реакционную смесь охлаждали до комнатная температура и полученный раствор разбавляли этилацетатом. Полученную смесь промывали H<sub>2</sub>O. Смесь сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем и элюировали этилацетатом/петролейным простым эфиром (1:100). Получали 350 мг (64%) трет-бутил-N-[(1R)-2-(4-фторфенил)-1-метилциклопропил]карбамата в виде масла желтого цвета. Раствор трет-бутил-N-[(1R,2S)-2-(4-фторфенил)-1-метилциклопропил]карбамата (350 мг, 1,32 ммоль, 1,00 эквив.) в метаноле (HCl) (10 мл) перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Полученный раствор разбавляли 10 мл H<sub>2</sub>O. Значение pH раствора довели до 9 насыщенным раствором бикарбоната натрия. Полученный раствор экстрагировали с применением 3×10 мл этилацетата, и органические слои объединяли и сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в

вакууме. Получали 200 мг (92%) (1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)-1-метилциклопропан-1-амин в виде масла желтого цвета.

Пример А1: N-((*S*)-1-оксо-6-(((1*R*,2*S*)-2-фенилциклопропил)амино)-1-(пирролидин-1-ил)гексан-2-ил)бензамид

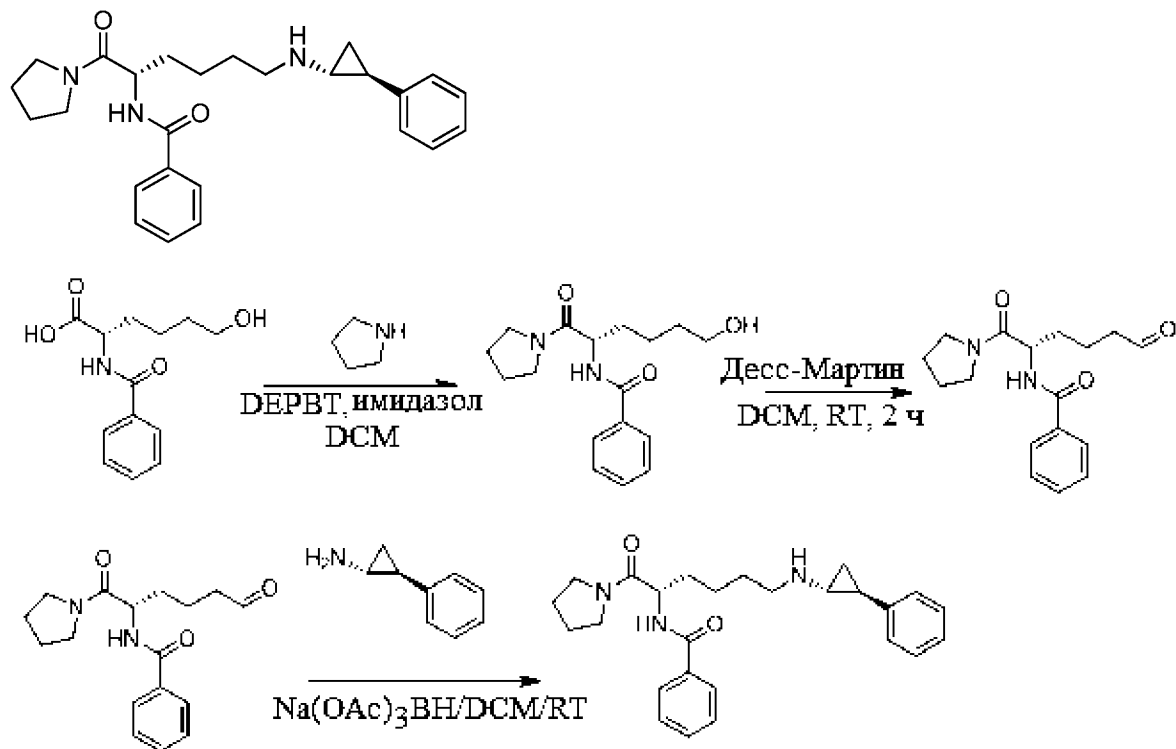
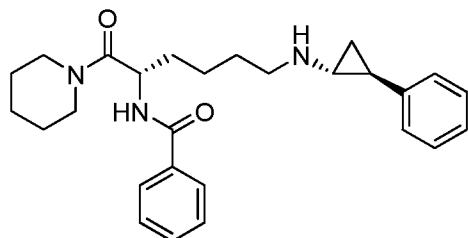


Схема I

[0118] (*S*)-2-бензамидо-6-гидроксигексановую кислоту получали из (*S*)-2-амино-6-гидроксигексановой кислоты. Это вещество (1 г, 3,98 ммоль, 1,00 эквив.) в тетрагидрофуране подвергали реакции с 3-(диэтоксифосфорилокси)-1,2,3-бензотриазин-4(3*H*)-оном (DEPBT) (2,4 г, 8,03 ммоль, 2,00 эквив.) и имидазолом (542 мг, 7,97 ммоль, 2,00 эквив.). Реакцию обеспечивали путем добавления раствора пирролидина (283 мг, 3,98 ммоль, 1,00 эквив.) в тетрагидрофуране при 0°C в течение 30 мин. Полученный раствор перемешивали в течение 16 ч при комнатной температуре. Раствор разбавляли KН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub>(вод.). Водный слой экстрагировали этилацетатом и органические слои промывали солевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия. После фильтрации растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток очищали посредством препаративной ВЭЖХ и элюировали с применением MeCN с 0,5% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>. Получали 640 мг (53%) (*S*)-N-(6-гидрокси-1-оксо-1-(пирролидин-1-ил)гексан-2-ил)бензамида в виде масла светло-желтого цвета. (*S*)-N-(6-гидрокси-1-оксо-1-(пирролидин-1-ил)гексан-2-ил)бензамид (640 мг, 2,10 ммоль, 1,00 эквив.) в дихлорметане (100 мл) окисляли с применением периодинана Десса-Мартина (DMP) (893 мг, 2,11 ммоль, 1,00 эквив.). Полученный раствор перемешивали в течение 30 мин при 0°C на водяной/ледяной бане и затем разбавляли с применением Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>(вод.) и NaHCO<sub>3</sub>(вод.). Водные слои экстрагировали этилацетатом и органические слои промывали солевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия. После фильтрации растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток хроматографировали на силикагеле и элюировали этилацетатом/петролейным простым эфиром (10:1). Получали 150 мг (24%) (*S*)-N-(1,6-диоксо-1-(пирролидин-1-ил)гексан-2-ил)бензамида в виде твердого вещества

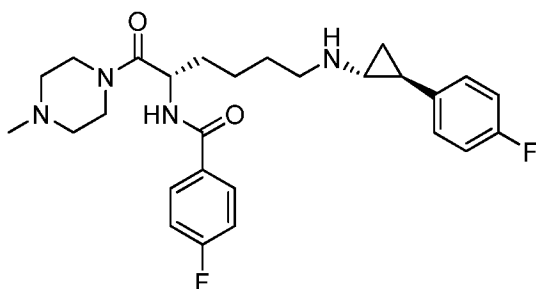
белого цвета. (*S*)-*N*-(1,6-диоксо-1-(пирролидин-1-ил)гексан-2-ил)бензамид (150 мг, 0,50 ммоль, 1,00 эквив.) растворяли в дихлорметане (25 мл). (1*R*,2*S*)-2-фенилциклопропанамин (66 мг, 0,50 ммоль, 1,00 эквив.) добавляли. После перемешивания в течение 5 минут триацетоксиборгидрид натрия (252 мг, 1,19 ммоль, 2,40 эквив.) добавляли. Полученный раствор перемешивали в течение 30 мин при 0°C. После завершения реакции полученный раствор разбавляли насыщенным NaHCO<sub>3</sub>. Затем экстрагировали с применением дихлорметана. Органические слои промывали солевым раствором и сушили над безводным сульфатом натрия. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток очищали посредством препаративной ВЭЖХ (CAN/ H<sub>2</sub>O с 0,5% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>). Получали 29 мг (14%) *N*-((*S*)-1-оксо-6-(((1*R*,2*S*)-2-фенилциклопропил)амино)-1-(пирролидин-1-ил)гексан-2-ил)бензамида в виде бесцветного масла. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CD<sub>3</sub>OD-*d*<sub>4</sub>) δ ppm: 7,85(d, *J* = 7,5 Гц, 2H), 7,60-7,00(m, 8H), 4,85-4,75(m, 1H), 3,92-3,80(m, 1H), 3,70-3,30(m, 4H), 2,74(t, *J* = 7,2 Гц, 1H), 2,36-2,28(m, 1H), 2,07-1,75(m, 7H), 1,74-1,37(m, 4H), 1,10-0,95(m, 2H), MS (ES, *m/z*): 420 (M + H).

Пример А2: *N*-((*S*)-1-оксо-6-(((1*R*,2*S*)-2-фенилциклопропил)амино)-1-(пиперидин-1-ил)гексан-2-ил)бензамид



[0119] *N*-((*S*)-1-оксо-6-(((1*R*,2*S*)-2-фенилциклопропил)амино)-1-(пиперидин-1-ил)гексан-2-ил)бензамид получали тем же образом, как описано для синтеза *N*-((*S*)-1-оксо-6-(((1*R*,2*S*)-2-фенилциклопропил)амино)-1-(пирролидин-1-ил)гексан-2-ил)бензамида. (*S*)-2-бензамидо-6-гидроксигексановую кислоту подвергали реакции сочетания с пиперидином с применением 3-(диэтоксифосфорилокси)-1,2,3-бензотриазин-4(3*H*)-она и имидзола. Полученный спирт (*S*)-*N*-((6-гидрокси-1-оксо-1-(пиперидин-1-ил)гексан-2-ил)бензамид окисляли с применением условий Десса-Мартина до альдегида (*S*)-*N*-((1,6-диоксо-1-(пиперидин-1-ил)гексан-2-ил)бензамида. Его подвергали реакции сочетания с (1*R*,2*S*)-2-фенилциклопропанамин в условиях восстановительного аминирования (Na(OAc)<sub>3</sub>BH) с получением целевого продукта *N*-((*S*)-1-оксо-6-(((1*R*,2*S*)-2-фенилциклопропил)амино)-1-(пиперидин-1-ил)гексан-2-ил)бензамида в виде бесцветного масла. ES, *m/z* = 434 (M+H). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CD<sub>3</sub>OD-*d*<sub>4</sub>) δ ppm: 7,86(d, *J* = 7,2Гц, 2H), 7,70-7,40(m, 3H), 7,30-7,15(m, 2H), 7,15-7,08(m, 1H), 7,06(d, *J* = 7,2Гц, 2H), 5,15-5,00(m, 1H), 3,80-3,60(m, 2H), 3,60-3,40(m, 2H), 2,34(t, *J* = 7,2Гц, 2H), 2,40-2,30(m, 1H), 2,10-1,40(m, 4H), 1,15-1,00(m, 2H).

Пример А3: 4-фтор-N-((S)-6-(((1R,2S)-2-(4-фторфенил)циклопропил)амино)-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксогексан-2-ил)бензамид



[0120] 4-фтор-N-((S)-6-(((1R,2S)-2-(4-фторфенил)циклопропил)амино)-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксогексан-2-ил)бензамид получали образом, аналогичным Примеру А2. Спирт 4-фтор-N-((S)-6-(((1R,2S)-2-(4-фторфенил)циклопропил)амино)-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксогексан-2-ил)бензамид получали посредством восстановления (S)-2-(4-фторбензамидо)гександиовой кислоты с применением  $\text{Me}_2\text{S}\cdot\text{BH}_3$ . Этот тип восстановления применяли для получения подобных спиртов (например, исходное вещество для спирта (S)-2-бензамидо-6-гидроксигексановую кислоту для синтеза N-((S)-1-оксо-6-(((1R,2S)-2-фенилциклопропил)амино)-1-(пирролидин-1-ил)гексан-2-ил)бензамида (Пример А1)). В трехгорлую круглодонную колбу объемом 1000 мл, которую продували азотом и поддерживали в ней инертную атмосферу азота, помещали раствор (S)-2-(4-фторбензамидо)гександиовой кислоты (10 г, 35,30 ммоль, 1,00 эквив.) в тетрагидрофуране (300 мл). Затем раствор  $\text{Me}_2\text{S}\cdot\text{BH}_3$  (11 мл, 3,00 эквив.) в тетрагидрофуране (50 мл) добавляли при 0°C. Полученный раствор перемешивали в течение 3 ч при 0°C на ледяной/солевой бане. Затем реакцию гасили путем добавления 20 мл метанола. Полученную смесь концентрировали в вакууме. Полученный раствор разбавляли 300 мл насыщенного  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Полученный раствор экстрагировали с применением 3×100 мл этилацетата и водные слои объединяли. Значение pH раствора довели до 2 соляной кислотой (2 моль/л). Полученный раствор экстрагировали с применением 3×200 мл этилацетата и органические слои объединяли. Полученную смесь промывали 1×500 мл солевого раствора. Смесь сушили над безводным сульфатом натрия. Твердые вещества отфильтровывали. Полученную смесь концентрировали в вакууме. Получали 6 г (63%) (S)-2-(4-фторбензамидо)-6-гидроксигексановой кислоты в виде бесцветного масла. Это вещество подвергали реакции с N-метилпиперазином с последующим окислением Десса-Мартина с реакцией сочетания посредством восстановительного аминирования с (1R,2S)-2-(4-фторфенил)циклопропанаминном образом, описанным для синтеза N-((S)-1-оксо-6-(((1R,2S)-2-фенилциклопропил)амино)-1-(пирролидин-1-ил)гексан-2-ил)бензамида (Пример А1) с получением желаемого продукта 4-фтор-N-((S)-6-(((1R,2S)-2-(4-фторфенил)циклопропил)амино)-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксогексан-2-ил)бензамида в виде бесцветного масла. ES, m/s = 485 \*M+H).  $^1\text{H}$  NMR (300 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$ )  $\delta$  ppm: 7,83 (dd,  $J_1=5,4$ Гц,  $J_2=1,4$ Гц, 2H), 7,18-7,04 (m, 3H), 7,00-6,87 (m, 4H), 5,17-5,05 (m, 1H), 3,78-3,50 (m, 4H), 2,71 (t,  $J=6,9$ Гц, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,28-2,21 (m, 1H), 1,90-1,78 (m, 2H), 1,72-1,31 (m, 9H), 1,07-0,96 (m, 1H), 0,94-0,86 (m, 1H).

Пример 158: N-[(2*S*)-1-(4-(метил)пиперазин-1-ил)-5-[[*(1R,2S)*-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино]-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамид

(Соединение 2, свободное основание Соединения 1)

[0121] N-[(2*S*)-1-(4-(метил)пиперазин-1-ил)-5-[[*(1R,2S)*-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино]-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамид (Соединение 2) получали способом согласно Схеме II.

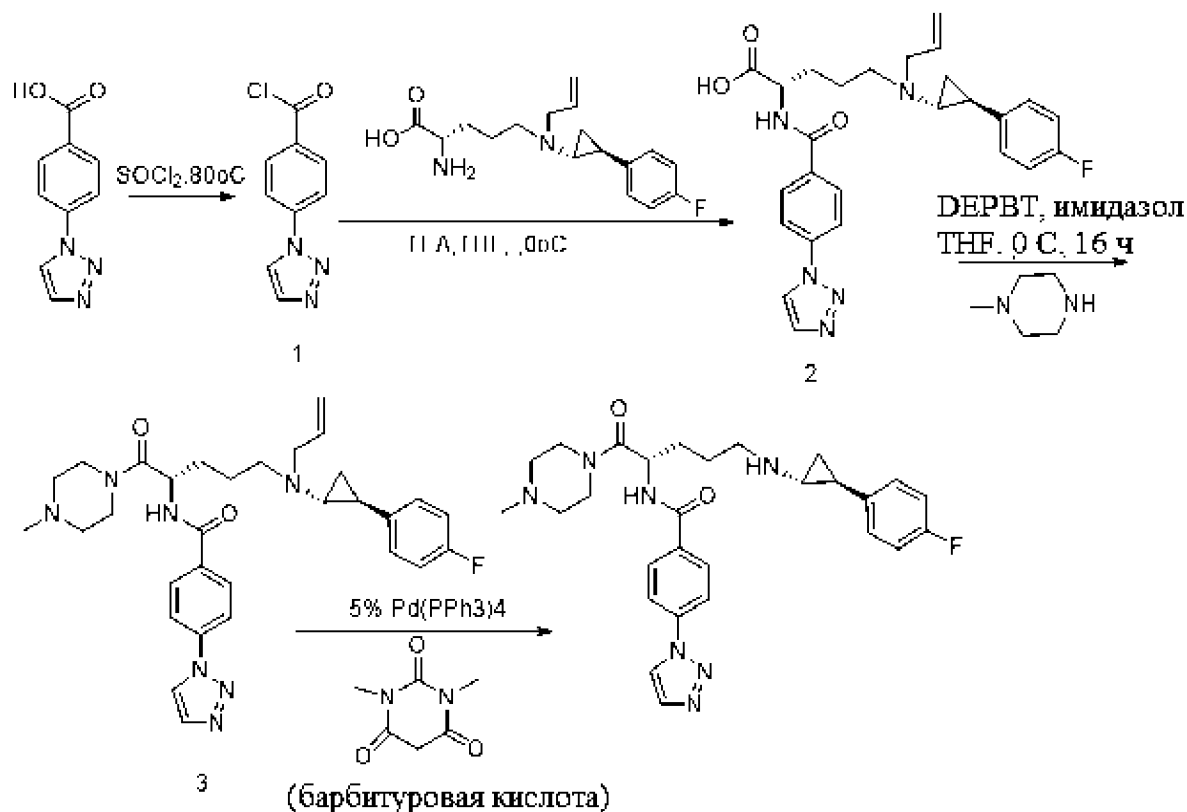


Схема II

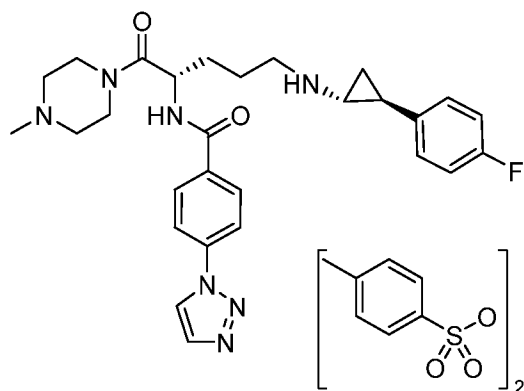
[0122] 4-(1*H*-1,2,3-триазолил-1-ил)бензоилхлорид (1). В круглодонной колбе объемом 100 мл объединяли 4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензойную кислоту (1 г, 5,29 ммоль, 1,00 эквив.) и тионилхлорид (20 мл). Полученный раствор перемешивали в течение 16 ч при 80 °С на масляной бане. Полученную смесь затем концентрировали при пониженном давлении, получая 1 г (91%) промежуточного соединения (1) в виде твердого вещества желтого цвета.

[0123] (2*S*)-5-[[*(1R,2S)*-2-(4-фторфенил)циклопропил](пропен-3-ил)амино]-2-[[4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)фенил]формамидо]пентановая кислота (2). В круглодонной колбе объемом 100 мл объединяли (2*S*)-2-амино-5-[[*(1R,2S)*-2-(4-фторфенил)циклопропил](проп-2-ен-1-ил)амино]пентановую кислоту (500 мг, 1,63 ммоль, 1,00 эквив.), Et<sub>3</sub>N (494 мг, 4,88 ммоль, 3,00 эквив.) и THF (20 мл). После этого добавляли раствор промежуточного соединения (1) с предшествующей стадии (1 г, 4,82 ммоль, 2,95 эквив.) в THF (20 мл) по каплям при перемешивании при 0 °С за 30 мин. Полученный раствор перемешивали в течение 1 ч при 0 °С на ледяной/солевой бане, затем концентрировали при пониженном давлении и наносили на колонку с силикагелем с CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/метанолом (10:1). Собранные фракции объединяли и концентрировали при пониженном давлении с получением 400 мг (51%) промежуточного соединения (2) в виде твердого вещества грязновато-белого цвета.

[0124] N-[(2S)-1-(4-(метил)пиперазин-1-ил)-5-[[1R,2S)-2-(4-фторфенил)циклопропил](проп-2-ен-1-ил)амино]-1-оксопентан-2-ил]-4-(1H-1,2,3-триазол-1-ил)бензамид (3). В круглодонной колбе объемом 100 мл объединяли промежуточное соединение (2) с предыдущей стадии (400 мг, 0,84 ммоль, 1,00 эквив.), DEPBT (375 мг, 1,25 ммоль, 1,50 эквив.) и THF (20 мл) с последующим добавлением имидазола (85 мг, 1,25 ммоль, 1,50 эквив.). Смесь перемешивали в течение 30 мин при 0 °С, в этой точке 1-метилпиперазин (127 мг, 1,27 ммоль, 1,50 эквив.) добавляли по каплям при перемешивании при 0 °С за 3 мин. Полученный раствор перемешивали в течение 16 ч при 20 °С, затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток наносили на колонку с силикагелем с CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/метанолом (10:1). Собранные фракции объединяли и концентрировали при пониженном давлении с получением 300 мг (64%) промежуточного соединения (3) в виде твердого вещества желтого цвета.

[0125] N-[(2S)-1-(4-(метил)пиперазин-1-ил)-5-[[1R,2S)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино]-1-оксопентан-2-ил]-4-(1H-1,2,3-триазол-1-ил)бензамид (Пример 158, Соединение 2). В круглодонную колбу объемом 100 мл, которую продували азотом и поддерживали в ней инертную атмосферу азота, помещали N-[(2S)-5-[[1R,2S)-2-(4-фторфенил)циклопропил](проп-2-ен-1-ил)амино]-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1H-1,2,3-триазол-1-ил)бензамид (300 мг, 0,54 ммоль, 1,00 эквив.), 1,3-диметил-1,3-диазинан-2,4,6-трион (210 мг, 1,34 ммоль, 2,50 эквив.), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (155 мг, 0,13 ммоль, 0,25 эквив.). Полученный раствор перемешивали в течение 2 ч при 45 °С на масляной бане. Полученную смесь концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт (10 мл) очищали посредством препаративной флэш-ВЭЖХ. Получали 65 мг (23%) Примера 158 в виде твердого вещества желтого цвета.

[0126] В качестве альтернативы, Пример 158 и его бис-тозилатную соль (бис-тозилатная соль Соединения 2, «Соединение 1»)



можно получить способом согласно Схеме III:

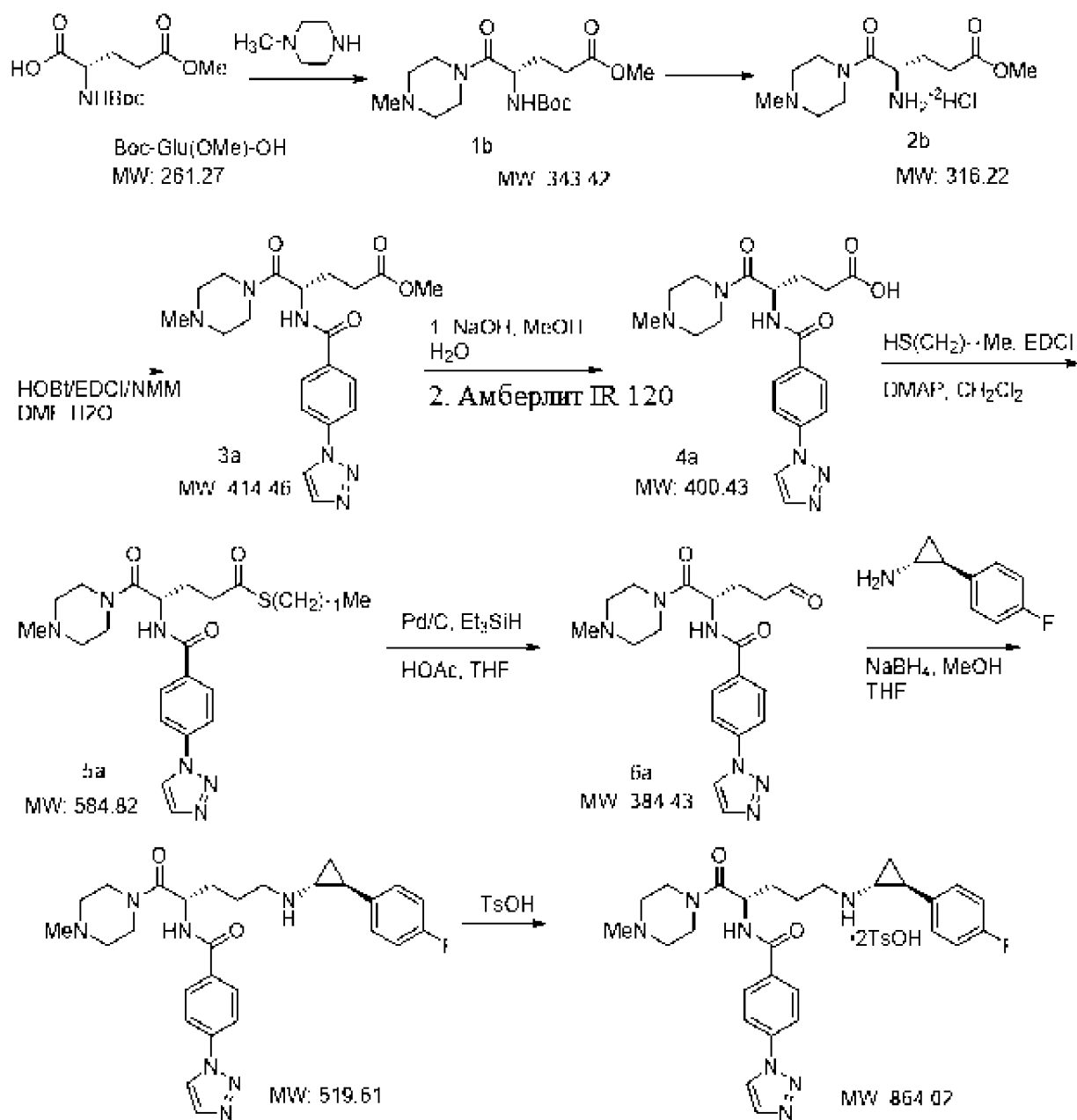


Схема III

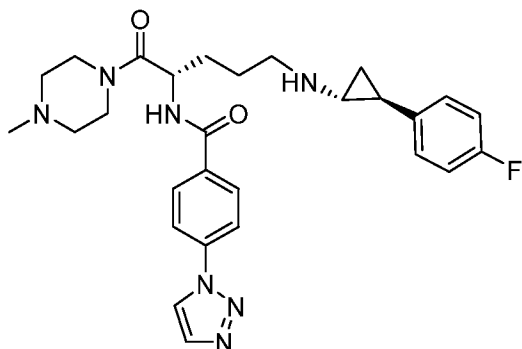
[0127] Соединения, раскрытые в настоящем документе, включая Соединение 1, можно синтезировать как раскрыто в US20160237043, WO2018035259 и WO2018035249.

[0128] Соединения, раскрытые в настоящем документе, можно синтезировать с использованием способов, аналогичных описанным в настоящем документе и известных в данной области техники, с использованием соответствующих исходных веществ и реагентов. Следует понимать, что в следующих структурах могут быть получены смеси изомеров или отдельные изомеры, такие как рацемические смеси и альтернативные энантиомеры, цвиттерионы и т.п., например, посредством использования соответствующего L- или D-изомера, хирального или ахирального соединения в качестве исходного вещества или реагента или посредством применения стадии разделения.



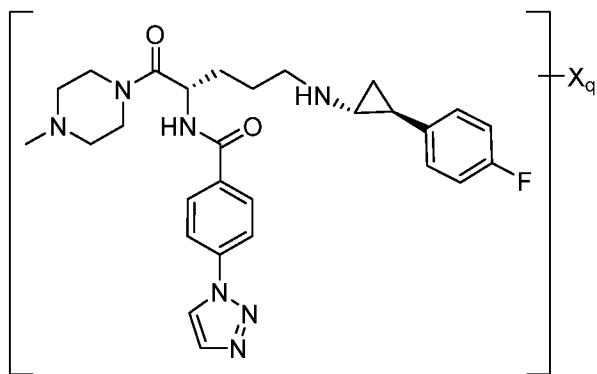
[0129] Таким образом согласно определенным вариантам осуществления, в соединениях, приведенных ниже, конфигурация заместителей циклопропиламина представляет собой транс-группу по отношению к фенилу. Согласно определенным вариантам осуществления транс-конфигурация представляет собой R, S, в других представляет собой S, R.

[0130] Согласно определенным вариантам осуществления соединение представляет собой:



(«Соединение 2») или его соль, полиморф или сольват.

[0131] Согласно определенным вариантам осуществления соединение представляет собой соль формулы:



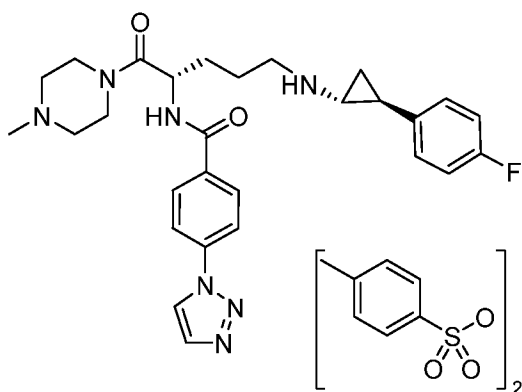
или ее полиморф или сольват, где:

X выбран из тозилата, сульфата, тартрата, оксалата, безилата, фумарата, цитрата, эзилата и малата, и q представляет собой целое число, выбранное из 1 и 2.

[0132] Согласно определенным вариантам осуществления X представляет собой тозилат.

[0133] Согласно определенным вариантам осуществления q представляет собой 2.

[0134] Согласно определенным вариантам осуществления соединение представляет собой



(«Соединение 1»).

[0135] Соединения, раскрытые выше, или любое их подмножество или виды, можно применять в любом из способов лечения и воздействия на клинически/терапевтически релевантные конечные точки, описанных в настоящем документе.

[0136] Согласно определенным вариантам осуществления настоящее изобретение относится к соединению, как раскрыто в настоящем документе, для применения в качестве лекарственного средства.

[0137] Согласно определенным вариантам осуществления настоящее изобретение относится к соединению, как раскрыто в настоящем документе, для применения для получения лекарственного средства для профилактики или лечения заболевания или состояния, или воздействия на клинически релевантную конечную точку, как раскрыто в настоящем документе.

[0138] Согласно определенным вариантам осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, которая содержит соединение, как раскрыто в настоящем документе, вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

[0139] Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтическая композиция составлена для перорального введения.

[0140] Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит другое терапевтическое средство.

### Способы лечения заболевания и применения в лекарственных средствах

[0141] Настоящее изобретение относится к способам лечения или профилактики миелопролиферативного новообразования, причем способ предусматривает введение субъекту, нуждающемуся в этом, соединения ингибитора LSD1, как раскрыто в настоящем документе.

[0142] Согласно определенным вариантам осуществления способ оказывает или приводит к одному или более из следующего:

- подавление пролиферации злокачественных миелоидных клеток у субъекта, нуждающегося в этом,
- снижение концентрации одного или более белковых факторов роста (например, тромбоцитарного фактора роста, фактора роста сосудистого эндотелия, трансформирующего ростового фактора бета 1 или тромбоцитарного фактора 4 (aka CXCL4)), секретируемых клетками костного мозга (например, мегакариоцитами), которые активируют один или более клеточных типов, которые секретируют ретикулин и

коллаген (например, стромальные клетки, фибробласты или миофибробласты костного мозга), у субъекта, нуждающегося в этом,

- снижение концентрации одного или более белковых факторов роста (например, тромбоцитарного фактора роста, фактора роста сосудистого эндотелия, трансформирующего ростового фактора бета 1 или тромбоцитарного фактора 4 (aka CXCL4)), секретируемых клетками костного мозга (например, мегакариоцитами), которые нарушают функцию остеокластов костного мозга снижать количество остеосклероза костного мозга, у субъекта, нуждающегося в этом,

- снижение ретикулинового и/или коллагенового фиброза костного мозга у субъекта, нуждающегося в этом,

- снижение уровней в плазме одного или более воспалительных цитокинов у субъекта, нуждающегося в этом,

- снижение нагрузки злокачественных клеток, измеряемой посредством частоты мутантного аллеля миелоидных клеток, у субъекта, нуждающегося в этом,

- элиминация злокачественных миелоидных клеток у субъекта, нуждающегося в этом,

- сокращение патологически повышенной массы эритроцитов у субъекта, нуждающегося в этом,

- сокращение массы злокачественных миелоидных клеток у субъекта, нуждающегося в этом,

- уменьшение отклоняющегося от нормы размеры или объема селезенки у субъекта, нуждающегося в этом,

- сокращение количества экстрамедуллярного гемопоэза у субъекта, нуждающегося в этом,

- улучшение качества жизни (QOL), измеряемого валидированными оценками QOL на основе опроса пациента, у субъекта, нуждающегося в этом,

- уменьшение системных симптомов миелофиброза, измеренных на основе опроса пациента, у субъекта, нуждающегося в этом,

- увеличение продолжительности жизни субъекта, страдающего миелофиброзом, нуждающегося в этом,

- задержка или предотвращение прогрессирования миелофиброза в острый миелолейкоз у субъекта, нуждающегося в этом,

- сокращение количеств тромбоцитов у субъекта, нуждающегося в этом,

- сокращение патологически повышенной массы эритроцитов у субъекта, нуждающегося в этом,

- уменьшение повышенного уровня клеток костного мозга гранулоцитарной линии у субъекта, нуждающегося в этом,

- уменьшение клеточности костного мозга до нормальной клеточности в соответствии с возрастом с менее 5% бластных клеток у субъекта, нуждающегося в этом,

- поддержание количества бластных клеток костного мозга или снижение количества бластных клеток костного мозга до <5% у субъекта, нуждающегося в этом

- уменьшение частоты тромбоза и кровоизлияния у субъекта, нуждающегося в этом,

- уменьшение частоты трансфузий эритроцитов у субъекта, нуждающегося в этом,

- повышение гемоглобина до значения  $>100$  г/л и ниже верхнего предела нормы, соответствующей возрасту и полу, у пациента с MF,
- снижение гематокрита у пациента мужского пола с PV до  $< 45\%$  или снижение гематокрита у пациента женского пола с PV до  $\leq 42\%$ ,
- уменьшение уровня гемоглобина у пациента с PV до  $< 160$  г/л у пациента с PV, и/или
- сокращение массы эритроцитов у пациента с PV до  $\leq 5,2$ М/мл.

[0143] Согласно определенным вариантам осуществления способ оказывает или приводит к двум или более из указанного выше. Согласно определенным вариантам осуществления способ оказывает или приводит к трем или более из указанного выше. Согласно определенным вариантам осуществления способ оказывает или приводит к двум или более из указанного выше, отличного от снижения количеств тромбоцитов у субъекта, нуждающегося в этом. Согласно определенным вариантам осуществления одно, два, три или более из указанного выше ограничены указанным ниже.

[0144] Согласно определенным вариантам осуществления субъектом, нуждающимся в этом, является субъект, страдающий миелопролиферативным новообразованием. Согласно определенным вариантам осуществления миелопролиферативное новообразование выбрано из истинной полицитемии (PV), эссенциальной тромбоцитемии (ET), миелофиброза (MF), хронического миелогенного лейкоза (CML), хронической нейтрофильной лейкемии (CNL) и хронического эозинофильного лейкоза (CEL). Согласно определенным вариантам осуществления миелопролиферативное новообразование выбрано из истинной полицитемии (PV), эссенциальной тромбоцитемии (ET) и миелофиброза (MF). Согласно определенным вариантам осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой миелофиброз. Согласно определенным вариантам осуществления миелофиброз выбран из первичного миелофиброза (PMF) и миелофиброза на фоне PV/ET. Согласно определенным вариантам осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой первичный миелофиброз (PMF). Согласно определенным вариантам осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой миелофиброз на фоне PV/ET. Согласно определенным вариантам осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой эссенциальную тромбоцитемию. Согласно определенным вариантам осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой истинную полицитемию. Согласно определенным вариантам осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой хронический миелогенный лейкоз. Согласно определенным вариантам осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой хроническую нейтрофильную лейкемию. Согласно определенным вариантам осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой хронический эозинофильный лейкоз. Согласно определенным вариантам осуществления пациентом является человек.

[0145] Настоящее изобретение относится к способу подавления злокачественных миелоидных клеток у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1. Согласно определенным вариантам осуществления злокачественные миелоидные клетки имеют мутации в одном или более генах, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*) и кальретикулина (*CALR*). Согласно определенным вариантам осуществления способ дополнительно предусматривает стадию определения, имеет ли указанный субъект мутации в одном или более генах, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного

лейкоза (*MPL*) и кальретикулина (*CALR*). Согласно определенным вариантам осуществления злокачественные миелоидные клетки представляют собой злокачественные стволовые клетки. Согласно определенным вариантам осуществления сокращение злокачественных миелоидных клеток измеряют посредством частоты нагрузки мутантного аллеля, как измерено посредством ПЦР или секвенирования, или других способов, известных в данной области техники. Согласно определенным вариантам осуществления злокачественные миелоидные клетки сокращаются на по меньшей мере 50%. Согласно определенным вариантам осуществления злокачественные миелоидные клетки сокращаются на 2 или более  $\log = (100 \times \text{или более})$ .

[0146] Настоящее изобретение относится к способу уменьшения ретикулинового и/или коллагенового фиброза костного мозга у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1. Согласно определенным вариантам осуществления фиброз костного мозга представляет собой ретикулиновый фиброз костного мозга. Согласно определенным вариантам осуществления фиброз костного мозга представляет собой коллагеновый фиброз костного мозга. Согласно определенным вариантам осуществления фиброз костного мозга представляет собой ретикулиновый и коллагеновый фиброз костного мозга. Согласно определенным вариантам осуществления ретикулиновый и/или коллагеновый фиброз костного мозга снижается на по меньшей мере один балл, например, от 3 до 2, или от 2 до 1, или от 1 до 0. Согласно определенным вариантам осуществления ретикулиновый и/или коллагеновый фиброз костного мозга снижается на по меньшей мере два балла.

[0147] Согласно определенным вариантам осуществления субъект имеет мутации в одном или более генах, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*) и кальретикулина (*CALR*). Согласно определенным вариантам осуществления ингибитор LSD1 представляет собой соединение ингибитор LSD1, как раскрыто в настоящем документе. Мутации можно оценивать способами, известными в данной области техники, например, раскрытыми в Spivak J, «Narrative Review: Thrombocytosis, polycythemia vera, and JAK2 mutations: the phenotypic mimicry of chronic myeloproliferation,» *Annals of Internal Medicine* 2010 152(5):300-306 или Zhan H and Spivak JL, «The diagnosis and management of polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis in the JAK2 V617F era,» *Clin Adv Hematol Oncol*, 2009 May;7(5):334-42.

[0148] Настоящее изобретение относится к способу снижения уровней в плазме одного или более воспалительных цитокинов у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1. Согласно определенным вариантам осуществления один или более воспалительных цитокинов выбраны из интерферона-гамма (*IFN $\gamma$* ), фактора некроза опухоли альфа (*TNF $\alpha$* ), интерлейкина 1 $\beta$  (*IL-1 $\beta$* ), интерлейкина 6 (*IL-6*), интерлейкина 8 (*IL-8*), интерлейкина 10 (*IL-10*), интерлейкина 12 (*IL-12*), интерлейкина 15 (*IL-15*), интерлейкина 17 (*IL-17*), *CXCL4* (*PF4*) и *CXCL10* (*IP10*).

[0149] Согласно определенным вариантам осуществления измеренный цитокин или цитокины снижены до приблизительно следующих уровней или ниже:

- IL-6 снижен до ниже приблизительно 9 пг/мл,
- IL-8 снижен до ниже приблизительно 18 пг/мл,
- IL-10 снижен до ниже приблизительно 51 пг/мл,
- IL-12 снижен до ниже приблизительно 182 пг/мл,

- IL-15 снижен до ниже приблизительно 38 пг/мл,
- TNF $\alpha$  снижен до ниже приблизительно 15 пг/мл, и/или
- INF $\gamma$  снижен до ниже приблизительно 23 пг/мл.

Согласно определенным вариантам осуществления два, три, четыре, пять или более воспалительных цитокинов снижены.

[0150] Настоящее изобретение относится к способу снижения массы злокачественных миелоидных клеток у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1. Согласно определенным вариантам осуществления массу злокачественных миелоидных клеток измеряют посредством проточного цитометрического иммунофенотипирования. Согласно определенным вариантам осуществления массу злокачественных миелоидных клеток измеряют посредством частоты мутантного аллеля, соотношения числа клеток с вызывающими MPN мутациями (*MPL*, *CALR* или *JAK2*) и общего числа клеток, которые содержат как аллели дикого типа, так и мутантные аллели.

[0151] Настоящее изобретение относится к способу снижения нагрузки мутантного аллеля у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LSD1. Согласно определенным вариантам осуществления мутантный аллель представляет собой аллель одного или более генов, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*) и кальретикулина (*CALR*). Согласно определенным вариантам осуществления ингибитор LSD1 представляет собой соединение ингибитор LSD1, как раскрыто в настоящем документе. Согласно определенным вариантам осуществления нагрузка мутантного аллеля снижается на приблизительно 50% нагрузки мутантного аллеля субъекта (или среднего пула субъектов) мутированного гена Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*) или кальретикулина (*CALR*). Согласно определенным вариантам осуществления уменьшение нагрузки мутантного аллеля измеряют у пациента (пациентов) после лечения и сравнивают уровень до лечения с уровнем после курса лечения. Согласно определенным вариантам осуществления нагрузка мутантного аллеля снижается до уровня, при котором мутантные аллели Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*) и кальретикулина (*CALR*) являются необнаруживаемыми. Нагрузку мутантного аллеля можно оценить способами, известными в данной области техники, включая раскрытые выше.

[0152] Настоящее изобретение относится к способу снижения патологически повышенной массы эритроцитов у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1. Согласно определенным вариантам осуществления субъект страдает истинной полицитемией. Согласно определенным вариантам осуществления субъект имеет мутацию в Янус-киназе 2 (*JAK2*). Согласно определенным вариантам осуществления повышенную массу эритроцитов определяют путем измерения гематокрита или гемоглобина в крови. Согласно определенным вариантам осуществления измеренный гематокрит или гемоглобин должны быть снижены до нормального диапазона, соответствующего полу. Например, согласно определенным вариантам осуществления:

- гемоглобин в крови будет снижен до менее 16,5 г/дл у пациента мужского пола с PV или до менее 16,0 г/дл у пациента женского пола с PV,

- гематокрит будет снижен до менее 49% у пациента мужского пола с PV или до менее 48% у пациента женского пола с PV.

Согласно определенным вариантам осуществления повышенную массу эритроцитов измеряют посредством изотопного измерения массы эритроцитов. Согласно определенным вариантам осуществления повышенная масса эритроцитов составляет на более 25% выше среднего нормального прогнозируемого значения.

[0153] Настоящее изобретение относится к способу снижения повышенного количества лейкоцитов у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1. Согласно определенным вариантам осуществления субъект страдает хронической нейтрофильной лейкемией.

[0154] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения повышенного уровня клеток костного мозга гранулоцитарной линии у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1. Согласно определенным вариантам осуществления клетки костного мозга гранулоцитарной линии снижаются до значения в пределах нормального диапазона. Кроме того, настоящее изобретение относится к способу снижения клеточности костного мозга до нормальной клеточности в соответствии с возрастом с менее 5% бластных клеток, у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LSD1. Согласно определенным вариантам осуществления субъект страдает хронической нейтрофильной лейкемией.

[0155] Настоящее изобретение относится к способу повышения гемоглобина до  $>100$  г/л и до уровня ниже верхнего предела нормы, соответствующей полу и возрасту, у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1.

[0156] Кроме того, настоящее изобретение относится к способу а) снижения уровня гемоглобина у пациента с PV до  $< 160$  г/л, или б) снижения массы эритроцитов у пациента с PV, где снижение определяют на основании уровней гемоглобина  $Hb < 160$  г/л, предусматривающему введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1. Кроме того, настоящее изобретение относится к способу повышения гемоглобина до  $>100$  г/л у пациента с MF, предусматривающему введение терапевтически эффективного количества ингибитора LSD1. Кроме того, настоящее изобретение относится к способу повышения гемоглобина до значения  $>100$  г/л и до уровня ниже верхнего предела нормы, соответствующей полу и возрасту, у пациента с MF, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного количества ингибитора LSD1. Согласно определенным вариантам осуществления указанный субъект имеет мутацию в одном или более генах, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*) и кальретикулина (*CALR*). Согласно определенным вариантам осуществления указанный субъект страдает эссенциальной тромбоцитемией. Согласно определенным вариантам осуществления трансфузионная нагрузка указанного субъекта снижается.

[0157] Настоящее изобретение относится к способу снижения отклоняющегося от нормы размера или объема селезенки у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1. Согласно определенным вариантам осуществления указанный субъект имеет мутацию в одном или более генах, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*) и кальретикулина (*CALR*).

[0158] Настоящее изобретение относится к способу снижения количества экстрамедуллярного гемопоэза у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1. Согласно определенным вариантам осуществления указанный субъект имеет мутацию в одном или более генах, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*) и кальретикулина (*CALR*). Согласно определенным вариантам осуществления количество экстрамедуллярного гемопоэза измеряют посредством спленомегалии. Согласно определенным вариантам осуществления спленомегалия у указанного субъекта снижается на по меньшей мере приблизительно 30 %, по меньшей мере приблизительно 35 %, по меньшей мере приблизительно 40 % или по меньшей мере приблизительно 45 %. Согласно определенным вариантам осуществления спленомегалия у указанного субъекта снижается на по меньшей мере 35 %. Согласно определенным вариантам осуществления спленомегалия снижается на по меньшей мере 35 % у приблизительно 50% пациентов.

[0159] Настоящее изобретение относится к способу снижения системных симптомов миелофиброза, как измерено на основе опроса пациента, у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества ингибитора LSD1. Согласно определенным вариантам осуществления указанные системные симптомы содержат один или более симптомов, выбранных из утомляемости, чувства быстрого насыщения, желудочно-кишечного дискомфорта, сонливости, проблем с концентрацией внимания, онемения и/или покалывания в руках и ногах, ночной потливости, прурита, боли в костях, жара более 100° F и необъяснимого снижения веса.

[0160] Согласно определенным вариантам осуществления указанный опрос пациента представляет собой форму оценки симптомов миелопролиферативного новообразования (MPN-SAF). MPN-SAF представляет собой форму валидированной клинической оценки наиболее распространенных симптомов миелопролиферативных новообразований, в которой пациенты самостоятельно сообщают о своей оценке по шкале от 1 до 10 различных общих симптомов, где 1 является наиболее благоприятным или симптом отсутствует, а 10 является наименее благоприятным или симптом наихудший, какой только можно вообразить. См., например, Scherber R et al., *The Myeloproliferative Neoplasm Symptom Assessment Form (MPN-SAF): International Prospective Validation and Reliability Trial in 402 patients.*» *Blood* 118(2):401-08 (2014). Для пациента может быть проведена как полная, так и сокращенная формы. В сокращенной форме «общая оценка симптомов» (TSS) может быть рассчитана из десяти наиболее клинически значимых симптомов из MPN-SAF из 17 пунктов: сильная утомляемость, концентрация, чувство быстрого насыщения, сонливость, ночная потливость, зуд, боль в костях, желудочно-кишечный дискомфорт, потеря веса и жар. Таким образом, TSS MPN-SAF имеет возможный диапазон от 0 до 100. Показатели качества жизни определяются как «клинически неудовлетворительная», когда они оцениваются как по меньшей мере 4 из 10, «умеренная», если симптомы оцениваются как  $\geq 4$  из 10 или  $\leq 6$  из 10, и «тяжелая», если симптомы оцениваются как  $\geq 7$  из 10. Для пациентов, выполнивших по меньшей мере шесть из этих 10 пунктов BFI и MPN-SAF, TSS MPN рассчитывается как среднее наблюдаемых пунктов, умноженное на 10 для достижения шкалы от 0 до 100. См., например, Emanuel RM et al., "Myeloproliferative neoplasm (MPN) symptom assessment form total symptom score: prospective international assessment of an abbreviated symptom burden scoring system among patients with MPNs," *J Clin Oncol* 30(33):4098-103 (2012).

[0161] Согласно определенным вариантам осуществления общая оценка симптомов (MPN-SAF:TSS) снижается на по меньшей мере 50%.



[0162] Согласно определенным вариантам осуществления указанный опрос пациента представляет собой форму оценки симптомов миелофиброза (MF-SAF). См., например, Mesa RA et al., " The Myelofibrosis Symptom Assessment Form (MFSAF): an evidence-based brief inventory to measure quality of life and symptomatic response to treatment in myelofibrosis," Leuk Res. 33(9):1199-203 (2009). Согласно определенным вариантам осуществления общая оценка симптомов MF-SAF снижается на по меньшей мере 50%.

[0163] Согласно определенным вариантам осуществления:

- субъект имеет мутацию в одном или более генах, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*) и кальретикулина (*CALR*),
- субъект страдает миелопролиферативным новообразованием,
- субъект страдает миелопролиферативным новообразованием, выбранным из истинной полицитемии (PV), эссенциальной тромбоцитемии (ЕТ) и миелофиброза,
  - субъект страдает миелофиброзом,
  - субъект страдает миелофиброзом, выбранным из первичного миелофиброза (PMF) и миелофиброза на фоне PV/ЕТ,
  - субъект страдает миелофиброзом на фоне PV/ЕТ (MF),
  - субъект страдает первичным миелофиброзом (PMF),
  - субъект страдает истинной полицитемией,
  - субъект страдает эссенциальной тромбоцитемией,
  - субъект страдает хроническим миелогенным лейкозом,
  - субъект страдает хронической нейтрофильной лейкемией или
  - субъект страдает хроническим эозинофильным лейкозом,
  - субъектом является человек, и/или
  - ингибитор LSD1 представляет собой соединение ингибитор LSD1, как раскрыто в настоящем документе.

[0164] Настоящее изобретение, кроме того, относится к вариантам осуществления, в которых любой из указанного выше варианта осуществления способа может быть объединен с любым одним или более из этих вариантов осуществления, при условии, что комбинация не является взаимоисключающей. В контексте настоящего изобретения два варианта осуществления являются «взаимоисключающими», когда один определен как вариант, который не может перекрываться с другим. Например, вариант осуществления, в котором заболевание, подлежащее лечению, представляет собой первичный миелофиброз (PMF), является взаимоисключающим с вариантом осуществления, в котором заболевание, подлежащее лечению, представляет собой миелофиброз (MF) на фоне PV/ЕТ, поскольку эти классификации являются результатом различных диагнозов. Однако вариант осуществления, в котором заболевание, подлежащее лечению, представляет собой PMF, не является взаимоисключающим с вариантом осуществления, в котором ретикулиновый и/или коллагеновый фиброз костного мозга снижается, поскольку ретикулиновый и/или коллагеновый фиброз костного мозга возникает при PMF.

[0165] В способах, раскрытых выше, или любом их подмножестве или видах, можно применять любое из соединений, раскрытых выше, в качестве ингибиторов LSD1, либо как отдельные химические соединения, либо

как описано одной из формул или вариантов осуществления, либо можно применять содержащую их фармацевтическую композицию.

### **Примеры**

[0166] Ниже представлены биологические анализы и клинические испытания, демонстрирующие применимость описанных в настоящем документе композиций и способов.

### **Биологическая активность**

[0167] Было показано, что соединения, раскрытые в настоящем документе, являются ингибиторами LSD1, как описано, например, в WO 2015/021128 и WO 2016/130952 или в любой из ссылок, цитируемых выше, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

### **Пример 1. Клинические испытания фазы 1/2A и фазы 2B при миелофиброзе**

[0168] Многоцентровое открытое исследование по оценке безопасности, переносимости, стационарной фармакокинетики и фармакодинамики Соединения 1, вводимого перорально один раз в день, у пациентов с MF высокого риска, включая первичный миелофиброз (PMF), миелофиброз на фоне истинной полицитемии (PPV-MF) и миелофиброз на фоне эссенциальной тромбоцитемии (PET-MF) (в совокупности обозначаемые как «MF») начинали как исследование фазы 1/2A и расширяли до исследования фазы 2b.

[0169] В ходе части исследования фазы 1/2A оценивали: безопасность исходной начальной дозы 0,25 мг/кг/день, продолжительность лечения 85 дней с последующим периодом вымывания до 28 дней и фармакокинетические измерения и измерения концентрации лекарственного средства. Пациенты, демонстрирующие клиническую пользу, могли возобновить лечение в течение дополнительных 12-недельных циклов. При переходе к исследованию фазы 2b применяли изменения, подтвержденные более ранними фармакокинетическими и фармакодинамическими исследованиями и оценками безопасности, включая: повышенную начальную дозу 0,5 мг/кг/день с большим шагом титрования, продолжительность лечения 168 дней (24 недели) с непрерывным дозированием посредством исключения периода вымывания, отказ от взятия образцов для оценки фармакокинетики и концентрации лекарственного средства и сокращенный график посещений.

[0170] Это исследование проводили для нескольких сайтов. Лечение подвергали до 50 пациентов в возрасте восемнадцати лет и старше с миелофиброзом высокого риска. Основные цели включали безопасность и переносимость, фармакокинетику (ПК, только фаза 1/2A) и уменьшение объема селезенки (SVR). Поиск конечные точки включали улучшение системных симптомов, продемонстрированное снижением общей оценки симптомов (TSS), полученной с помощью MPN-SAF в фазе 1/2A и с использованием инструмента TSS MPN-SAF в фазе 2B, цитокинов и фиброза костного мозга (BM). Ключевые критерии включения включали: миелофиброз высокого или среднего риска 2, по мнению исследователя, неэффективны (невосприимчивы или резистентны, неадекватно контролируются или не переносятся) или не являются кандидатами на доступную одобренную терапию, включая руксолитиниб, количество тромбоцитов  $\geq 100$ К/мкл и циркулирующих бластов  $\leq 10\%$ .

[0171] Дозирование подбирали с использованием количества тромбоцитов в качестве биомаркера влияния активности бомедемстата на функцию и активность мегакариоцитов. Мегакариоциты, клетки костного мозга и других органов, образующие тромбоциты, играют центральную роль в патогенезе миелофиброза и

эссенциальной тромбоцитемии. В обоих случаях соматические мутации в стволовых клетках костного мозга приводят к образованию зрелых мегакариоцитов, которые продуцируют избыточные тромбоциты и биологически активные белки, которые изменяют нишу костного мозга, а также попадают в кровоток, что приводит к симптомам, характерным для этих состояний, таким как зуд и утомляемость.

[0172] Одной из стратегий уменьшения избыточной продукции мегакариоцитов является нацеливание на созревание и функцию мегакариоцитов. Эффективность лечения, нацеленного на мегакариоциты, может быть определена количественно путем измерения продукции мегакариоцитов, например, тромбоцитов в кровотоке или воспалительных цитокинов и факторов роста в плазме или сыворотке.

[0173] Дозирование при таком лечении можно сделать более точным путем титрования дозы для того, чтобы снизить количество тромбоцитов до определенного диапазона.

[0174] В части фазы 1/2a исследования пациенты начинали с предполагаемой субтерапевтической дозы 0,25 мг/кг/день. Корректировку дозы проводили еженедельно (продолжительность жизни тромбоцитов человека) с титрованием дозы в сторону увеличения или уменьшения в зависимости от значений тромбоцитов на момент оценки. Восходящее титрование проводили с шагом 0,125 или 0,0625 мг/кг/день, как показано ниже. Нисходящее титрование проводили с уменьшением на 50% от текущей дозы. Предполагалось, что расчетная эффективная доза составляет ~1 мг/кг QD, хотя это не является верхним пределом, ожидали, что доза, необходимая для достижения оптимального терапевтического эффекта, будет различаться у разных пациентов и, возможно, меняться с течением времени. Ожидали, что целевое количество тромбоцитов для титрования, связанное с наиболее эффективным терапевтическим эффектом, составляет от  $\geq 50000$  до  $< 100000/\text{мкл}$  ( $50-100 \times 10^9/\text{л}$ ). Правила титрования и повторного назначения дозы фазы 1/2a, основанные на еженедельной оценке количества тромбоцитов, указаны ниже в Таблице 1.

**Таблица 1. Правила титрования и повторного назначения дозы части фазы 1/2a исследования**

Тромбоциты (оценка Plt)		Правила титрования и повторного назначения дозы		
Количество Plt ( $\times 10^9/\text{л}$ )	% сокращения Plt	Титрование?*	Правило титрования*	Правило повторного назначения дозы
$\geq 100$	< 50% от предыдущей недели	Повышение дозы	Добавление 0,125 мг/кг/день	N/A
$\geq 100$	> 50% от предыдущей недели	Повышение дозы	Добавление 0,0625 мг/кг/день	N/A
75-99	< 30% от предыдущей недели	Повышение дозы	Добавление 0,0625 мг/кг/день	N/A

75-99	> 30% от предыдущей недели	Поддержание текущей дозы	N/A	N/A
50-74	N/A	Поддержание текущей дозы	N/A	N/A
25-49	N/A	Понижение дозы	50% от текущей дозы	N/A
< 25	N/A	<b>УДЕРЖАНИЕ ДОЗЫ</b>	N/A	<b>При 50% от предыдущей дозы, когда количество тромбоцитов возвращается к &gt; 50**</b>

**Важно:** для пациентов, зарегистрированных в США, для повышения дозы требуется  $ANC \geq 0,5 \times 10^9/l$  (500/мкл) и  $Hb > 8$  г/дл (80 г/л). Для значений ANC или Hb ниже этих пороговых значений текущая доза должна поддерживаться или корректироваться в зависимости от количества тромбоцитов в соответствии с приведенным ниже.

\*DSMC может, после рассмотрения отдельных пациентов и ответов пациентов, требовать повышение или понижение дозы, которые не согласуются с вышеизложенным.

\*\*При повторном назначении дозы все вышеперечисленные правила применяются повторно.

[0175] Однако всем пациентам, включенным в фазу 1/2A исследования, требовалось многократное повышение дозы Соединения 1 от исходной начальной дозы 0,25 мг/кг/день для того, чтобы привести тромбоциты к целевому диапазону количества тромбоцитов, что указывает на то, что начальная доза должна быть выше. Затем строили кривую зависимости ответа от дозы, которая предоставила алгоритм титрования для корректировки дозы для достижения целевого количества тромбоцитов в диапазоне 50000–75000 тромбоцитов на микролитр (к/мкл), разработанного с целью сведения к минимуму вероятности тяжелой тромбоцитопении. За исключением самой высокой и самой низкой доз (общая дневная доза 4 мг и 100 мг), средняя общая дневная доза соединения 1, необходимая для достижения количества тромбоцитов в целевом диапазоне, составляла 78,3 мг (стандартное отклонение 13,8, диапазон 53-90 мг) или эквивалент приблизительно от 0,7 до 1,2 мг/кг/день. Соответственно для того, чтобы позволить пациентам быстрее достигать оптимальной дозы, сохраняя при этом достаточный запас безопасности, для всех пациентов, включенных в фазу 2b исследования, выбирали новую начальную дозу соединения 1, составляющую 0,5 мг/кг QD. Правила титрования и повторного назначения дозы также изменяли в связи с этой новой целью (Таблица 2).

**Таблица 2. Правила титрования и повторного назначения дозы части фазы 2b исследования**

Тромбоциты (оценка Plt)		Правила титрования и повторного назначения дозы		
Количество Plt ( $\times 10^9/\text{л}$ )	% сокращения Plt	Титрование?*	Правило титрования*	Правило повторного назначения дозы
$\geq 90$	< 50% от предшествующей проверки <sup>§</sup>	Повышение дозы	Добавление 0,2 мг/кг/день	N/A
$\geq 90$	$\geq 50\%$ от предшествующей проверки <sup>§</sup>	Повышение дозы	Добавление 0,1 мг/кг/день	N/A
40-89	N/A	Поддержание текущей дозы	N/A	N/A
25-39	N/A	Понижение дозы	Снижение текущей дозы в мг/кг на 25% <sup>ф</sup>	N/A
< 25	N/A	<b>УДЕРЖАНИЕ ДОЗЫ</b>	N/A	<b>При 50% от предыдущей дозы, когда количество тромбоцитов возвращается к &gt; 50**</b>

**Важно:** для повышения дозы требуется  $\text{ANC} \geq 0,5 \times 10^9/\text{л}$  (500/мкл) и  $\text{Hb} > 8$  г/дл (80 г/л). Для значений ANC или Hb ниже этих порогов текущая доза должна быть сохранена или скорректирована в зависимости от количества тромбоцитов в соответствии с таблицей ниже.

\* DSMC может требовать повышение или понижение дозы, которое не соответствует приведенному выше.

\*\*Повторное назначение дозы при 50% от предыдущей дозы в мг/кг.

‡ При повторном назначении дозы все вышеперечисленные правила применяются повторно.

§ Обратите внимание, если число тромбоцитов увеличилось после предыдущего визита, следует соблюдать правило «<».

ф Введение 75 % от предыдущей дозы в мг/кг, что отражает снижение дозы на 25 %.

[0176] После изменения алгоритма дозирования проводили повторный анализ дозирования, ответа и безопасности на основе опыта первых шестнадцати пациентов. Средняя доза, необходимая для достижения и безопасного поддержания пациента в диапазоне целевого количества тромбоцитов («терапевтическая доза»), составляла 63,8 мг/день или 0,85 мг/кг/день (при среднем весе 75 кг). (Три пациента так и не достигли целевого диапазона, два прекратили прием до 6-й недели, а один не согласился на повышение дозы из-за утомляемости). Исключая одного пациента, который поддерживал общую дневную дозу 4 мг от дня 321 до дня 510, и второго, который прекратил исследование на день 35, диапазон общей дневной терапевтической дозы составлял от 50 до

85 мг. Ожидается, что в исследовании фазы 3 начальная доза составит 40 мг с одной или двумя дополнительными корректировками дозы в последующие 4-6 недель.

[0177] Восемнадцать пациентов участвовали в части Фазы 1b/2a исследования. Из них четверо выбыли из исследования досрочно: 1 с прогрессированием заболевания в ускоренную фазу (день 39), 2 из-за нежелательных явлений, утомляемости (день 33), целлюлита (считается несвязанным) (день 77) и 1 с проведением альтернативной терапии из-за анемии (День 77). Осталось 14 пациентов, доступных для оценки ответа на 12-й неделе, и 9 пациентов, доступных для оценки ответа на 24-й неделе. Дополнительно 13 были включены в часть фазы 2b, как описано ниже. Характеристики пациентов для в общем 31 пациента на текущую дату приведены ниже в Таблице 3.

**Таблица 3.**

<b>Средний возраст</b>	<b>66 (диапазон 48-89)</b>
мужчина / женщина	58% / 42%
<b>Подтип заболевания:</b>	
PMF	48%
MF на фоне ET	33%
MF на фоне PV	19%
<b>Классификация риска:</b>	
Высокий риск	48%
Средний риск-2	52%
Длина селезенки	Медиана 23 см (диапазон: 12-28)
Объем селезенки	Медиана 1353 см <sup>3</sup> (диапазон: 192-6819 см <sup>3</sup> )
Оценка симптома (MPN-10)	Медиана: 314 (диапазон: 1 -82)
<b>Анализ крови:</b>	
WBC	17,3×10 <sup>9</sup> /л (диапазон: 1-71)
Гемоглобин	9,5 г/дл (диапазон: 7,2-13,0)
Тромбоциты	197×10 <sup>9</sup> /л (диапазон: 102-1572)

[0178] Все пациенты, кроме одного, ранее получали один или более курсов лечения, включающего руксолитиниб. 48% имели PMF, 33% имели PEF-MF, 19% имели PPV-MF. Средний возраст пациентов составлял 65 лет (48-89 лет), 58% мужчин. 48% были отнесены к группе высокого риска (IPSS), остальные – к среднему риску-2. Из тех, кто прошел глубокий генетический анализ (экзомное секвенирование 264 генов AML и MPN), 71% имели более одной мутации, из которых 63% были мутациями высокого молекулярного риска (ASXL1, U2AF1, SRSF2), 31% имели аномальные карิโอотипы. Значительная часть пациентов имела ≥3 мутаций. Пациенты получали лечение ежедневно в течение 12 недель в соответствии с вышеуказанной начальной дозой и правилами титрования с последующим периодом вымывания до 28 дней. Начальное количество тромбоцитов варьировалось от приблизительно 141 до приблизительно 1309 тыс./мкл. Биопсия костного мозга и визуализирующие исследования брюшной полости проводили до лечения и в период вымывания после 12 недель дозирования. Классификацию миелофиброза проводили централизованно с использованием пересмотренной классификации

миелоидной неоплазии Всемирной организации здравоохранения 2016 г. (Arber *et al.*, 2016), прочтение изображения также выполняли централизованно. Форму оценки симптомов миелопролиферативного новообразования (MPN-SAF) заполняли самостоятельно на начальном уровне и еженедельно с 0-го дня до визита окончания исследования (EoS). С помощью этого инструмента получали общие оценки симптомов. Пациенты, у которых была доказана клиническая польза, могли возобновить лечение в течение дополнительных 12-недельных циклов.

[0179] *Результаты.* 78% (N=14) из 18 пациентов завершили 12 недель (84 дня) и 44% (N=9) завершили 24 недели. У пациентов, доступных для оценки в этом предварительном анализе (N=14, те, которые завершили 85-дневный цикл и для которых были доступны визуализирующие исследования, полученные в течение первых 2 недель вымывания), Соединение 1 оказало сильное влияние на симптомы миелофиброза. Объемы селезенки в целом уменьшились у пациентов, обследованных на данный момент, как показано на фиг. 1. На 12-й неделе у 7 (50%) отмечали уменьшение объема селезенки, на 24 неделе у 6 (75%) отмечали уменьшение объема селезенки, у 1 (12,5%) из них на 35%. Показатели MPN-10 также в целом снизились, как показано на фиг. 2. На 12-й неделе у 11 (79%) наблюдали снижение оценки симптомов, у 3 из них (21%) на  $\geq 50\%$ , на 24-й неделе у 8 (89%) наблюдали снижение оценки симптомов, у 4 (44%) из них на  $\geq 50\%$ .

[0180] По сравнению с наилучшим доступным лечением (BAT), например, как в клиническом испытании PERSIST-2 (см., например, клиническое испытание № NCT02055781), Соединение 1 превзошло BAT, как показано на фиг. 3: реакция объема селезенки (SVR) и общая оценка симптомов (TSS) были лучше.

[0181] Кроме того, наблюдали подавление воспалительных цитокинов и снижение циркулирующих факторов роста. Как показано на фиг. 4-6, S100A9 (фиг. 4), RANTES (фиг. 5) и IL-8 (фиг. 6) в общем снижались на 12-й неделе в ходе лечения Соединением 1, при этом уровни CCL3, IL-6, IL-10, IL-33, IL-28A, IFN $\beta$ , IFN $\alpha$ , IFN $\gamma$  не были повышены ни у одного из пациентов. Как показано на фиг. 7 и 8, уровни факторов роста VEGF и PDGF-BB в общем снижались на 12-й неделе. Актуальность этих результатов в терапевтической теории ингибирования LSD1 показана на фиг. 9.

[0182] Также наблюдали улучшение уровня гемоглобина (Hb) и процента эритроцитов, содержащих фетальный гемоглобин, (F-клетки). Из 18 пациентов, включенных в фазу 1b/2a, 3 поступили в день 0 с Hb > 10 г/дл, а у 15 была анемия 2 или 3 степени с Hb < 10 г/дл. Из 3 пациентов с Hb > 10 г/дл у 1 наблюдали улучшение (определено как увеличение Hb > 1 г/дл), а у 2 наблюдали ухудшение (снижение Hb > 1 г/дл) на 84-й день в ходе лечения Соединением 1. Из 15 пациентов с уровнем гемоглобина < 10 г/дл 9 были зависимы от трансфузий, а 6 были независимы от трансфузий. Из 9 пациентов, зависимых от трансфузий, на 84-й день 1 стал независимым от трансфузий и улучшил уровень гемоглобина > 1 г/дл, у 8 сохранялась стабильная частота трансфузий, а у одного частота трансфузий увеличилась. Из 6 пациентов, независимых от трансфузии, 1 показал улучшение, 3 оставались стабильными, а 2 показали ухудшение (1 стал зависимым от трансфузии, у 1 наблюдали снижение гемоглобина более чем на 1 г/дл). В то же время Соединение 1 снижало процент F-клеток, как показано на фиг. 10 (на котором пациенты пронумерованы произвольно и не обязательно соответствуют нумерации пациентов на предыдущих чертежах). Фетальный гемоглобин (HbF) является установленным серологическим индикатором рака и фетального гемопоэза, который не происходит в селезенке здоровых взрослых, наблюдается в селезенке при миелопролиферативных новообразованиях.

[0183] Также наблюдали изменения степени фиброза костного мозга. На сегодняшний день из 13 пациентов с биопсией костного мозга (от дня 0 до дня 84 или EoT) у 2 (15%) было улучшение  $\geq 1$  степени, у 8 (62%) был стабильный показатель фиброза и у 3 (23%) было прогрессирование до степени 1.

[0184] В отношении оценки симптомов, улучшения, как правило, были дозозависимыми и быстрыми, например, оценки утомляемости были улучшены у 8 из первых 16 пациентов в течение 14 дней. Эти изменения наблюдали при двух самых низких дозах у всех, кроме одного, из этих 16 пациентов. Подобно тому, как было сообщено в исследованиях ингибиторов JAK у пациентов с MF, не было обнаружено корреляции между улучшением симптоматики и изменениями объема селезенки. Уменьшение объемов селезенки было скомпрометировано несколькими способами. Пациентов преднамеренно лечили начальной дозой, которая, как ожидалось, была субоптимальной, и у большинства из них количество тромбоцитов не достигало целевого диапазона до середины 85-дневного цикла. Кроме того, все пациенты проходили контрольные визуализирующие исследования в течение периода вымывания, при этом при обследовании врачом стало очевидно, что объемы селезенки увеличились. В части фазы 2b исследования период вымывания был устранен, а режим дозирования был улучшен для более быстрого достижения целевого количества тромбоцитов и безопасного поддержания пациента в этом диапазоне в течение более длительного времени.

[0185] Лечение Соединением 1 уменьшило количество тромбоцитов у всех пациентов. Изменение продукции тромбоцитов было тесно связано с воздействием Соединения 1, количество тромбоцитов можно было титровать с достаточной точностью. Кинетика этих изменений соответствовала известной продолжительности жизни тромбоцита человека, равной 7 дней. При прекращении лечения количество тромбоцитов резко увеличилось, что указывает на обратимость антитромбопоэтического эффекта Соединения 1 после того, как лекарственное средство вывелось. Как и у крыс и собак, продукция гранулоцитов оказалась менее чувствительной к ингибированию LSD1, количество периферических гранулоцитов было ниже при лечении, количество лимфоцитов не изменилось, а количество моноцитов, как правило, было умеренно повышено. Эти наблюдения согласуются с тем, что наблюдалось как в доклинических исследованиях, так и в других клинических исследованиях.

[0186] *Безопасность.* На протяжении всего исследования не наблюдали случаев смерти или дозозаменяющей токсичности. Четыре SAE присущи Соединению 1 (все степени 3), включая болезненную спленомегалию, головную боль, тошноту и рвоту и сердечную недостаточность. Было зарегистрировано 139 АЕ всех степеней, присущих Соединению 1. Наиболее частыми АЕ у 31 субъекта из обоих вышеупомянутых исследований были тромбоцитопения (11 субъектов, 35%), анемия (3 субъекта, 10%) и тошнота (1, 3). %. Наиболее частыми АЕ степени 3/4, присущими Соединению 1, были анемия (6 субъектов, 19%) и нейтропения (3 субъекта, 10%).

[0187] Вышеизложенное демонстрирует, что у гетерогенной популяции пациентов с MF с ограниченными терапевтическими возможностями Соединение 1 хорошо переносилось, оказалось безопасным и было эффективным в уменьшении объемов селезенки и существенном улучшении показателей симптомов у большинства пациентов.

## **Пример 2. Клинические испытания фазы 2В при миелофиброзе**



[0188] Многоцентровое открытое исследование с определением диапазона доз для оценки безопасности, оптимально эффективных правил дозирования, стационарной фармакокинетики и фармакодинамики Соединения 1 при пероральном приеме один раз в день у пациентов с миелофиброзом проводили в ходе исследования фазы 1/2a.

- Первичные цели состояли в оценке у пациентов с MF влияния Соединения 1 на:
- безопасность и переносимость
- Фармакокинетика (только фаза 1/2a)
- Уменьшение объема селезенки

[0189] Поисковые цели (могут быть проанализированы некоторые или все) включали оценку у пациентов с MF, получавших Соединение 1:

- Адекватность схемы лечения для получения фармакодинамического эффекта
- Гематологический ответ (гематологические параметры, все из которых могут быть оценены в ходе лечения или после прекращения приема лекарственного средства в течение определенного периода времени, могут включать: общий анализ крови (CBC), включая тромбоциты, эритроциты и лейкоциты (RBC и WBC) и количество циркулирующих бластных клеток, клеточный состав костного мозга (% бластов) и индукцию фетального гемоглобина)

- Улучшение системных симптомов, оцененное с использованием формы оценки симптомов миелопролиферативного новообразования (MPN-SAF)

- Снижение масштаба фиброза костного мозга
- Взаимосвязь между дозой и минимальной концентрацией в плазме с течением времени (только фаза 1/2a)

- Влияние терапии на бремя болезни, измеряемое специфическими для злокачественных клеток нуклеиновыми маркерами (ДНК или РНК, нуклеиновые маркеры включают мутации РНК и/или ДНК, обнаруживаемые с помощью секвенирования или других способов анализа нуклеиновых кислот)

- Влияние лечения на профили цитокинов (количественная оценка цитокинов)
- Взаимосвязь между генетическими абберациями в злокачественных клетках и фармакодинамическим ответом

- И корреляция обычных клинических ответов с исследовательскими оценками ответа.

[0190] Соединение 1 предоставляли в виде капсул с различной дозировкой. Эти дозы, основанные на свободном основании Соединения 1, т.е. активном веществе, могут включать: 1 мг, 5 мг, 10 мг, 25 мг и 50 мг. Предусмотренная дозировка капсул может меняться на протяжении всего исследования.

[0191] Терапевтическая цель лечения MF состояла в том, чтобы ингибировать активность LSD1 в гемопоэтических клетках только в течение части 24-часового цикла дозирования, достаточной для снижения продукции цитокинов и факторов роста, которые управляют фиброгенезом костного мозга. Соображения относительно безопасной и терапевтической начальной дозы включали хронические токсикологические исследования в сочетании с клиническим опытом пациентов, которые получали Соединение 1 до настоящего времени в предыдущих исследованиях. В связи с этой терапевтической целью и моделированием фармакокинетики для фазы 1/2A данного исследования была выбрана начальная доза (Ds) 0,25 мг/кг/день. Однако всем пациентам требовалось многократное повышение дозы Соединения 1 по сравнению с этой начальной дозой

для того, чтобы привести тромбоциты к целевому диапазону количества тромбоцитов, предполагая, что Ds должны быть выше. Затем строили кривую зависимости ответа от дозы, которая предоставила алгоритм титрования для корректировки дозы для достижения целевого количества тромбоцитов в диапазоне 50000–75000 тромбоцитов на микролитр (тыс./мкл), разработанного с целью сведения к минимуму вероятности тяжелой тромбоцитопении. За исключением самой высокой и самой низкой доз, средняя общая дневная доза Соединения 1, необходимая для достижения количества тромбоцитов в целевом диапазоне, составляла 78,3 мг (SD 13,8, диапазон 53-90 мг) или эквивалент приблизительно от 0,7 до 1,2 мг/кг/день. Соответственно для того, чтобы позволить пациентам быстрее достичь оптимальной дозы, сохраняя при этом достаточный запас безопасности, для всех пациентов, включенных в фазу 2b исследования, выбирали новую начальную дозу соединения 1, составляющую 0,5 мг/кг QD.

[0192] В этом дизайне исследования использовали подход на основе альтернативной модели, подходящий для целевого нецитотоксического лекарственного средства, такого как Соединение 1, при котором не наблюдается монотонной зависимости между воздействием и токсичностью (Le Tourneau, et al., 2009). В частности, в этом исследовании использовали модель доза-токсичность, разработанную на крысах и собаках относительно концентрации лекарственного средства в плазме через 24 часа после последней дозы ( $C_{\min}$ ) в стационарном состоянии, необходимом для ингибирования продукции тромбоцитов.

[0193] Поскольку в доклинических исследованиях нет доказательств острой токсичности Соединения 1, даже при чрезвычайно высоких дозах (эквивалентная доза для человека (HED) ~20-40 мг/кг), полагали, что двух контрольных пациентов будет достаточно для того, чтобы установить острую безопасность начальной дозы. Таким образом, двум контрольным пациентам последовательно вводили начальную дозу 0,25 мг/кг/день в течение 7 дней и контролировали дважды в неделю, прежде чем лечить каких-либо дополнительных пациентов. Поскольку в этом исследовании не изучали влияние цитотоксического агента, было сочтено целесообразным включать пациентов на скользящей основе после установления безопасности путем дозирования контрольных пациентов. Пациентов регистрировали и лечили на непрерывной основе.

[0194] Для того, чтобы обеспечить безопасность пациентов, Комитет по мониторингу безопасности данных (DSMC) ежемесячно проводил анализ параметров безопасности и фармакодинамических маркеров, чтобы сделать выводы о безопасности и фармакодинамическом эффекте Соединения 1. DSMC также анализировал титрование доз для пациентов и рекомендуемые корректировки доз, а также оценивал необходимость посещения Дня 3. DSMC собирался в течение 4 дней после завершения 7-дневного лечения для каждого из контрольных пациентов и определял, что это безопасно:

1. Каждому пациенту, подлежащему дозированию, продолжать прием препарата (примечание: прием препарата не прерывался в ожидании этого изучения), и
2. Включать дополнительных пациентов для начала лечения Соединением 1.

#### Проведение исследования

[0195] Это исследование начинали как исследование фазы 1/2a, оценивая безопасность начальной дозы, продолжительность лечения в течение 85 дней и фармакокинетические и фармакодинамические эффекты Соединения 1, с переходом к исследованию фазы 2b, включающему изменения, подтвержденные более ранними фармакокинетическими и фармакодинамическими исследованиями и оценками безопасности. Это исследование

состояло из двух периодов лечения: начального периода лечения (ИТР), за которым следовал дополнительный период лечения (АТР). Пациентов начинали зачислять в часть фазы 2b исследования, в которой ИТР был расширен таким образом, что пациенты получали лечение ежедневно в течение 169 дней. АТР, также расширенный, включал лечение подходящих пациентов в течение дополнительных 169 дней.

[0196] *Начальный период лечения.* В ходе ИТР пациенты первоначально возвращались для оценки исследования два раза в неделю в течение первой недели (Дни 0, 3 и 7 ИТР), после введения дозы 3 пациентам при новой Ds, DSMC собирался для оценки необходимости визита на 3-й день. Пациенты приходили еженедельно в течение следующих 7 недель (14, 21, 28, 35, 42, 49 и 56 дни ИТР) по меньшей мере раз в две недели в течение 8 недель (70, 84, 98 и 112 дни ИТР), а затем ежемесячно в течение 8 недель (140 и 168 дни ИТР). Ожидали, что к 8-й неделе (56-й день) пациенты достигнут стабильной дозы, и еженедельное титрование больше не потребуется. Для экстраординарного пациента, у которого доза не стабилизировалась, еженедельные визиты продолжались по усмотрению врача (примечание: визиты раз в две недели могут продолжаться и после 112-го дня). На 84-й и 168-й дни пациентам проводили магнитно-резонансную томографию (МРТ) брюшной полости или компьютерную томографию (КТ), если пациент не был кандидатом на МРТ. На 168-й день также требовался забор костного мозга. До или в ходе визита на 168-й день, но в идеале на 140-й день визита для логистических целей, проводили «квалификационную» оценку для того, чтобы определить, получает ли пациент клиническую пользу (определяемую как несоответствие критериям прогрессирования заболевания и безопасная переносимость Соединения 1, это определение применяется во всем документе и не будет повторяться при каждой ссылке на клиническую пользу). Такие пациенты подходили для включения в АТР, переход, который должен был произойти без перерыва в дозировании. Пациенты, не достигшие клинической пользы или достигшие полного ответа (CR), частичного ответа (PR) или клинического улучшения (CI) и впоследствии рецидива, эквивалентного неэффективности лечения, прекращали прием Соединения 1 и подвергались визиту Прекращения лечения (ЕoT), Перед окончанием исследования (pre-EoS) и Прекращения исследования (EoS).

[0197] *Дополнительный период лечения.* В АТР ожидали, что лечение будет продолжаться в течение дополнительных 169 дней у тех пациентов, у которых была достигнута клиническая польза, как это было определено Главным исследователем. Отобранные пациенты возвращались для оценки исследования ежемесячно (Дни 0, 28, 56, 84, 112, 140 и 168 АТР). Предполагалось, что пациенты, продолжающие АТР, уже достигли стабильной дозы, и необходимость в частом титровании отпадет. Для экстраординарных пациентов, у которых доза не стабилизировалась, визиты раз в две недели продолжали по усмотрению врача. На 168-й день пациенты проходили те же процедуры и обследования, что и при ИТР, включая МРТ или КТ (если пациент не был кандидатом на МРТ) и забор костного мозга. До или в ходе визита на 168-й день, но в идеале на 140-й день визита в целях логистики, проводили «квалификационную» оценку для того, чтобы определить, продолжает ли пациент получать клиническую пользу. Таким образом, такие пациенты имеют право на повторный вход в АТР, который является итеративным, пациенты продолжали получать Соединение 1 до тех пор, пока они соответствовали требованиям.

[0198] Определенные пациенты, включенные в предыдущие клинические испытания с Соединением 1, завершали свою текущую фазу лечения в соответствии с этим протоколом до начала расширенного АТФ, описанного в настоящем документе. Такие пациенты не подвергались никакому периоду вымывания между периодами лечения, но оценки, предписанные в ходе вымывания, по-прежнему выполнялись с помощью МРТ

(или КТ), забора костного мозга и биопсии, необходимых при посещении на 84-й день. Для этих пациентов «квалификационную» оценку проводили в ходе визита в ходе исследования, непосредственно предшествующего визиту на 84-й день.

[0199] Оценки, которые были предписаны в ходе вымывания, все еще проводили, несмотря на устранение вымывания. Все пациенты прошли контрольные визиты в период наблюдения, в том числе посещение EoT в течение приблизительно 2 дней после последней дозы, посещение перед EOS приблизительно через 14 дней после последней дозы и посещение EoS приблизительно через 28 дней после последней дозы. Пациенты, которые не вошли в АТР или прекратили лечение досрочно, вступили в период наблюдения, начинающийся с визита EoT в течение приблизительно 2 дней после принятия решения о прекращении лечения.

[0200] На протяжении всего исследования за пациентами внимательно наблюдали как в отношении нежелательных явлений (АЕ), так и в отношении признаков токсичности путем частого мониторинга клинических признаков и симптомов, а также анализов периферической крови и мочи. Фармакодинамические эффекты тщательно отслеживали с помощью частых гематологических исследований периферической крови и необходимых отборов проб и биопсий костного мозга. На протяжении всего дозирования при необходимости выполняли трансфузии в соответствии со стандартными институциональными рекомендациями.

#### Дозирование

[0201] С помощью титрования дозы всем пациентам вводили вычисленную дозу Соединения 1, необходимую для людей, которая обеспечивает достаточное воздействие для безопасного ингибирования нормального гемопоэза в течение части 24-часового цикла дозирования (обозначается как Dpi).

[0202] *Начальный период лечения (ИТР).* Лечение начинали в день 0 при Ds 0,5 мг/кг QD для всех пациентов, включенных в часть фазы 2b исследования. Коррекция дозы может производиться при каждом визите в клинику (за исключением дня 3) с титрованием дозы в сторону увеличения или уменьшения в зависимости от сравнения гематологических показателей с предыдущим визитом в соответствии с приведенными ниже правилами. Ожидали, что Dpi будет  $\leq 1,2$  мг/кг QD, однако, это не было верхним пределом для целей титрования, поскольку доза, необходимая для достижения терапевтического эффекта, будет варьироваться у разных пациентов и может меняться с течением времени. Целевым показателем титрования тромбоцитов, который, как ожидали, связан с клинически значимым терапевтическим эффектом, было количество тромбоцитов от  $\geq 50000$  до  $\leq 75000$ /мкл ( $50-75 \times 10^9$ /л). Правила титрования и повторного назначения дозы, основанные на оценке количества тромбоцитов, абсолютного числа нейтрофилов (ANC) и гемоглобина (Hgb), указаны ниже.

[0203] *Правила титрования.* Важно: ANC  $\geq 0,5 \times 10^9$ /L (500/мкл) и Hgb  $> 8$  г/дл (80 г/л) необходимы для повышения дозы. Для значений ANC или Hgb ниже этих порогов текущая доза поддерживалась или корректировалась в зависимости от количества тромбоцитов в соответствии с Таблицей 4 ниже.

Таблица 4.

Тромбоциты (оценка Plt)		Правила титрования и повторного назначения дозы		
Количество	% сокращения Plt	Титрование?*	Правило титрования*	Правило повторного назначения дозы†

<b>Plt</b> ( $\times 10^9/\text{л}$ )				
$\geq 90$	< 50% от предшествующей проверки§	Повышение дозы	Добавление 0,2 мг/кг/день	N/A
$\geq 90$	$\geq 50\%$ от предшествующей проверки§	Повышение дозы	Добавление 0,1 мг/кг/день	N/A
40-89	N/A	Поддержание текущей дозы	N/A	N/A
25-39	N/A	Понижение дозы	Уменьшение текущей дозы в мг/кг на 25%ф	N/A
< 25	N/A	<b>УДЕРЖАНИЕ ДОЗЫ</b>	N/A	При 50% от предыдущей дозы, когда количество тромбоцитов возвращается к $> 50^{**}$

\* DSMC может требовать повышение или понижение дозы, которое не соответствует приведенному выше.

\*\*Повторное назначение дозы при 50% от предшествующей дозы в мг/кг.

¥ При повторном назначении дозы все вышеперечисленные правила применяются повторно.

§ Обратите внимание, что если количество тромбоцитов увеличилось после предыдущего визита, необходимо соблюдать правило «<».

фВведение 75% от предшествующей дозы в мг/кг, что отражает снижение дозы на 25 %.

[0204] Снижения дозы можно проводить в любое время в соответствии с медицинским контролем в случае возникновения нежелательного явления, требующего снижения дозы.

[0205] *Дополнительный период лечения (АТР)*: отвечающие требованиям пациенты «повторно начинали» прием Соединения 1 в день 0 АТР, при этом титрование дозы продолжали в соответствии с приведенной выше таблицей «Правила титрования», перерыв в дозировании не проводили (т.е. день 168 = день 0 нового АТФ). Дополнительное титрование дозы можно проводить в соответствии с медицинским контролем.

[0206] *Продолжительность исследования*. Процедуры скрининга можно проводить за 28 дней до начала лечения. Первоначально пациенты могли получать до 169 дней дозирования в ходе исследования. Пациентов наблюдали в течение 28 дней после последней дозы. Таким образом, ожидаемая продолжительность участия в исследовании должна была составлять по меньшей мере 32 недели с момента первого визита пациента (FPFV) до последнего визита пациента (LPLV). Дополнительное лечение может быть назначено в зависимости от оценки пользы для пациента.

[0207] *Оценки исследования*. Оценки, изложенные ниже, представлены в деталях по каждому ознакомительному визиту.

[0208] Общую оценку симптомов формы оценки симптомов миелопролиферативного новообразования (TSS MPN-SAF) заполняли на исходном уровне и в каждый день посещения (за исключением дня 3) с дня 0 до посещения Окончания исследования (EoS).

[0209] Нежелательные явления (AE) оценивали при каждом посещении после первой дозы Соединения 1 в течение визита EoS.

[0210] Физические осмотры (PE), включая основные показатели жизнедеятельности: при скрининге проводили полный медицинский осмотр. Ограниченные физические осмотры (LPE) проводили в ходе всех других визитов в клинику (за исключением дня 3) на протяжении всего исследования. LPE включают вес, обзор систем организма для оценки изменений по сравнению с предыдущим PE и измерение селезенки. Край селезенки определяют пальпаторно в сантиметрах с помощью мягкой линейки/рулетки от края реберной дуги до точки наибольшего выпячивания селезенки. Селезенку необходимо измерять одинаковым образом в ходе всех посещений.

[0211] Тестирование мочи или сыворотки на беременность проводили для женщин с детородным потенциалом (WOCBP) при скрининге, на исходном уровне (если отдельно от визита для скрининга), до введения дозы в день 0, ежемесячно (т. е. в дни 28, 56, 84, 112, 140). и 168) на протяжении всего исследования, при подозрении на рецидив, при визитах EoT, pre-EoS и EoS/ET, а также при подозрении на беременность, пока пациентка остается в исследовании.

[0212] Аспирацию костного мозга и биопсию проводили:

- На исходном уровне (не более чем за 21 день до первой дозы Соединения 1).
- На 168-й день ( $\pm 7$  дней).
- Приблизительно каждые 6 месяцев после этого, на 168-й день ( $\pm 7$  дней) АТР, до тех пор, пока пациент продолжает соответствовать требованиям.
- При EoT и ET (если не проводилось в течение предшествующих 5 недель) и при подозрении на рецидив (если не проводилось в течение последних 21 дня или не запланировано на следующие 7 дней).

По возможности аспирацию необходимо проводить из первого пула, но не далее второго пула. Общее количество оценок костного мозга, необходимых в ходе ИТР, составляет 2 за ~32 недели. Дополнительная оценка костного мозга требуется только в том случае, если пациент соответствует критериям АТР, демонстрирует ответ, за которым следует подозрение на рецидив, или признаки прогрессирующего заболевания.

[0213] МРТ или КТ (если пациент не является кандидатом на МРТ) брюшной полости выполняют:

- До введения дозы, день 0 ( $\pm 2$  дня)
- На 84-й и 168-й день посещений ( $\pm 7$  дней)
- Приблизительно каждые 6 месяцев после этого, на 168-й день ( $\pm 7$  дней) АТР, до тех пор, пока пациент продолжает соответствовать требованиям
- При EoT, ET и при подозрении на рецидив (если не проводили в течение предшествующих 5 недель)

[0214] Клинические лабораторные измерения: Следующие лабораторные измерения выполняют при скрининге, на исходном уровне (если они отделены от визита для скрининга), перед введением дозы в день 0, при подозрении на рецидив, а также в ходе визитов EoT, pre-EoS и EoS/ET, а также в соответствии со следующим:

- Биохимия – ежемесячно (т.е. дни 28, 56, 84, 112, 140 и 168) на протяжении всего исследования

- Гематология с ручным дифференциалом – каждое посещение клиники на протяжении всего исследования

- Коагуляция – ежемесячно (т.е. дни 28, 56, 84, 112, 140 и 168) на протяжении всего исследования
- Анализ мочи – 84-й и 168-й день на протяжении всего исследования

[0215] Цитокины: время сбора образцов указано ниже.

- День 0 до введения дозы, дни 14, 28, 84 и 168, а также каждое посещение АТР на 168 день до тех пор, пока пациент продолжает соответствовать требованиям

- В ходе ЕоТ и в ходе ЕТ (ЕТ требуется только в том случае, если пациент прекращает прием в ходе ИТР)

[0216] Гемоглобин F эритроцитов (HbF) и % F клеток (только выбранные сайты/только ИТР):

- Предварительная доза День 0, День 84 и День 168
- В ходе ЕоТ и ЕТ (оба необходимы, только если пациент прекращает прием в ходе ИТР)

[0217] Геномный анализ: образцы зародышевой линии должны быть собраны на исходном уровне, однако, их можно собирать вплоть до 1-го дня перед введением дозы. Может потребоваться повторный отбор проб в ожидании получения образца.

[0218] Образцы крови собирали для геномного анализа в следующие моменты времени:

- На исходном уровне (не более чем за 21 день до первой дозы Соединения 1)
- На 84-й и 168-й день посещений
- Приблизительно каждые 6 месяцев после этого, при каждом посещении АТР на 168-й день, до тех пор, пока пациент продолжает соответствовать требованиям
- В ходе ЕоТ, ЕoS/ЕТ и при подозрении на рецидив

Любые образцы аспирата костного мозга подвергаются геномному анализу в соответствии с графиком взятия образцов костного мозга.

[0219] Фармакодинамические (PD) оценки: параметры PD оценивают с использованием образцов крови и костного мозга, собранных как в ходе лечения, так и после прекращения лечения в течение определенного интервала времени. Может быть выполнено следующее: общий анализ крови (CBC) с дифференциацией лейкоцитов, измерение циркулирующих цитокинов и измерение мутаций РНК и/или ДНК и их частот, идентифицированных секвенированием, и индукция фетального гемоглобина. Оценку костного мозга, включая морфологию и оценку фиброза, проводят в связи с каждой временной точкой взятия проб костного мозга.

[0220] *Критерии приемлемости.* Пациенты должны соответствовать всем применимым критериям включения и ни одному из критериев исключения.

[0221] Критерии включения:

1. Информированное согласие.
2. Возраст: 18+ лет на скрининге.
3. Диагноз PMF в соответствии с диагностическими критериями Всемирной организации здравоохранения (WHO) для миелопролиферативных новообразований, PPV-MF в соответствии с IWG-MRT или PET-MF в соответствии с IWG-MRT и соответствие следующим дополнительным критериям, специфическим для подтипа:

а. Классифицируется как высокий риск (3 прогностических фактора) или средний риск-2 (2 прогностических фактора). Прогностические факторы определены Международной рабочей группой (Cervantes, et al., 2009):

- i. Возраст > 65 лет,
  - ii. Присутствие системных симптомов (потеря веса, жар, ночная потливость),
  - iii. Выраженная анемия (Hgb < 10 г/дл) (уровень гемоглобина < 10 г/дл должен быть продемонстрирован в ходе скрининга для пациентов, не зависящих от трансфузии. Полагают, что пациенты, получающие регулярные трансфузии эритроцитарной массы, имеют гемоглобин < 10 г/дл с целью оценки факторов риска.),
  - iv. Лейкоцитоз в анамнезе [WBC >  $25 \times 10^9$ /л (25000/мкл)],
  - v. Циркулирующие бласты > 1%.
4. Является невосприимчивым или резистентным, неадекватно контролируемым или не переносит доступное одобренное лечение или, по мнению исследователя, не является кандидатом для доступного одобренного лечения (примечание: одобренное лечение включает руксолитиниб).
5. Оценка состояния эффективности Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG)  $\leq 2$ .
6. Количество периферических бластных клеток  $\leq 10\%$  до введения дозы в день 0.
7. Абсолютное количество нейтрофилов  $\geq 0,5 \times 10^9$ /л (500/мкл) до введения дозы в день 0.
8. Количество тромбоцитов  $\geq 100 \times 10^9$ /л (100000/мкл) до введения дозы в день 0.
9. Ожидаемая продолжительность жизни > 36 недель.
10. Прекратили все предыдущие терапии MPN, включая руксолитиниб, любые химиотерапевтические препараты, иммуносупрессивную терапию (например, кортикостероиды > 10 мг/день, с отмеченным исключением: разрешено использование кортикостероидов для лечения подагры, поддерживающая дополнительная терапия кортикостероидами, такая как преднизолон  $\leq 10$  мг в день или эквивалент кортикостероидов), иммуномодуляторы (например, талидомид), лучевая терапия по меньшей мере за 2 недели до исследования и интерферон за 4 недели до дня 0 исследования. Разрешены низкие дозы ацетилсалициловой кислоты. Паллиативная лучевая терапия неиндексных или костных поражений, проведенная за < 2 недели до лечения, может быть рассмотрена с одобрения в соответствии с медицинским контролем.
11. Доступен для оценки костного мозга, забора периферической крови и мочи в ходе исследования.
12. Способен глотать капсулы.
13. Женщины детородного возраста (WOCBP) и фертильные мужчины должны дать согласие на использование утвержденного способа контрацепции с момента скрининга до 28 дней после последней дозы Соединения 1. К способам контрацепции относятся: комбинированная эстроген-гестагенная гормональная контрацепция, подавляющая овуляцию, гормональная контрацепция, содержащая только прогестаген, связанная с ингибированием овуляции, внутриматочная спираль (ВМС), двусторонняя трубная окклюзия, партнер, подвергшийся вазэктомии в моногамных половых отношениях (вазэктомия или перевязка маточных труб не менее чем за шесть месяцев до введения дозы), и полное половое воздержание (определяемое как воздержание от гетеросексуальных контактов). Пациенты, практикующие воздержание, должны дать согласие на использование одобренного способа контрацепции, если они станут сексуально активными в ходе исследования. Риск эмбриофетальной токсичности полностью снижается к 28 дню, что составляет >10 периодов полувыведения препарата в дозах, использованных в этом исследовании.



[0222] Критерии исключения:

1. Перенес серьезную операцию  $\leq 4$  недель до начала приема исследуемого лекарственного средства или не оправился от побочных эффектов такой операции.
2. Перенес любую хирургическую процедуру в течение 2 недель, за исключением незначительных процедур (например, биопсии кожи или установки/удаления центрального венозного катетера) до начала приема исследуемого лекарственного средства.
3. Спленэктомия в анамнезе.
4. Имеющаяся в анамнезе или запланированная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток в течение 24 недель после скрининга.
5. Оставшаяся токсичность, связанная с лечением, от предшествующей терапии (если она не уменьшена до  $\leq$  степени 1).
6. Текущее использование запрещенных препаратов (например, ромиплостима) или ожидается, что потребуется какое-либо из этих лекарственных средств в ходе лечения исследуемым лекарственным средством.
7. Известные реакции гиперчувствительности немедленного или замедленного действия или идиосинкразия на лекарственные средства, химически родственные Соединению 1 или ингибиторам LSD1 (т.е. ингибиторы моноаминоксидазы, MAOI), что мешает их участию.
8. Текущее использование ингибиторов моноаминоксидазы А и В (MAOI).
9. Неконтролируемая активная инфекция.
10. Одновременное второе активное и нестабильное злокачественное новообразование (подходят пациенты с одновременным вторым активным, но стабильным злокачественным новообразованием, таким как немеланомный рак кожи).
11. Доказательства риска кровотечения в ходе скрининга, включая любое из следующего:
  - a. Активированное частичное тромбопластиновое время (aPTT)  $\geq 1,3 \times$  локальный верхний предел нормы
  - b. Международное нормализованное отношение (INR)  $\geq 1,3 \times$  локальный верхний предел нормы
  - c. Тяжелая тромбоцитопения или дисфункция тромбоцитов в анамнезе, не связанные с миелопролиферативным заболеванием или его лечением
  - d. Известное нарушение свертываемости крови (например, дисфибриногенемия, дефицит фактора IX, гемофилия, болезнь фон Виллебранда, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром), дефицит фибриногена или дефицит другого фактора свертывания крови)
12. Доказательства на момент скрининга выраженной почечной или печеночной недостаточности (за исключением гемолиза или лейкоцитарной инфильтрации) согласно любому из следующих местных лабораторных параметров:
  - a. Расчетная скорость клубочковой фильтрации (GFR, по уравнению Кокрофта-Голта)  $< 40$  мл/мин или креатинин сыворотки  $> 1,5 \times$  локальный верхний предел нормы
  - b. Аспартаттрансаминаза (AST) или аланинаминотрансфераза (ALT)  $\geq 2 \times$  локальный верхний предел нормы
13. Известная инфекция вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) или известная активная инфекция вируса гепатита В или гепатита С (тестирование не проводят в рамках процедур скрининга).

14. Наличие в анамнезе любого заболевания/нарушения функции желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), которое может препятствовать всасыванию лекарственного средства (например, хроническая диарея), искажать результаты исследования или представлять дополнительный риск для пациента при участии в исследовании, пациенты, перенесшие операцию по шунтированию желудка.

15. Использование исследуемого агента менее чем за 14 дней или эквивалентно по меньшей мере 7 периодам полувыведения этого агента, в зависимости от того, что больше, до дня исследования 0.

16. Беременность и кормление ребенка грудным молоком, женщины, планирующие беременность в любое время в течение исследования.

[0223] *Руководство по безопасности.* Как правило, поддерживающая терапия (трансфузии, введение противогрибковых препаратов и т.д.) должна проводиться в соответствии с институциональной политикой. Кроме того, рекомендуется трансфузия пациентам с количеством тромбоцитов  $\leq 10 \times 10^9/\text{л}$  (10000/мкл). Гидроксимочевина может быть использована в ходе исследования в случае пролиферации: а) по усмотрению основного исследователя лечение гидроксимочевиной начинают при количестве лейкоцитов  $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$  (30000/мкл), и когда большинство клеток представляют собой незрелые клетки (миелоциты/промиелоциты), и б) лечение гидроксимочевиной прекращают, когда количество лейкоцитов  $< 10 \times 10^9/\text{л}$  (10000/мкл).

Пациенты, принимающие лекарственные средства, которые могут индуцировать или ингибировать CYP3A4 или CYP2D6, должны находиться под тщательным наблюдением на предмет потенциальных эффектов одновременного применения, особое внимание следует уделять противинфекционным средствам азольного класса.

[0224] *Запрещенные лекарственные средства/лечения.*

1. Все цитотоксические агенты, за исключением гидроксимочевины
2. Тромбопоэтические средства: ромиплостим, элтромбопаг
3. Преднизолон или преднизолон  $> 10$  мг/день (исключение: разрешено использование кортикостероидов для лечения подагры) и дексаметазон  $> 4$  мг/день. Допускается поддерживающая дополнительная терапия кортикостероидами, например, преднизолон  $\leq 10$  мг/день или эквивалент кортикостероидов.
4. Ингибиторы моноаминоксидазы А и В
5. NSAID антикоагулянтов и нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП, включая аспирин) запрещено у пациентов, у которых число тромбоцитов  $< 50 \times 10^9/\text{л}$  (50000/мкл).

Ингибирование LSD1 может вызвать цитопению, которая, в свою очередь, может вызвать увеличение гранулоцитарного и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (G-CSF и GM-CSF) и эритропоэтина (EPO). Хотя G-CSF, GM-CSF и EPO не запрещены экзогенно, вряд ли они принесут клиническую пользу при гранулоцитопении или анемии, соответственно, вторичной по отношению к ингибированию LSD1.

[0225] *Управление токсичностью в ходе исследования.* Интенсивность нежелательных явлений оценивали с использованием Общих терминологических критериев нежелательных явлений (CTCAE) Национального института рака (NCI) версии 4.03, опубликованных 14 июня 2010 г.

[0226] Гематологическая токсичность: гематологические значения за пределами нормального контрольного диапазона являются неотъемлемыми особенностями MPN и ожидаемыми эффектами многих терапевтических попыток лечения этих заболеваний. Ожидается воздействие соединения 1 на нормальный

миелоидный гемопоэз, наблюдаемое в неклинических и клинических исследованиях у людей, это фармакодинамические эффекты ингибирования LSD1 Соединением 1, поэтому они не рассматриваются как неблагоприятные. Эти события, за исключениями, указанными ниже, не будут рассматриваться как DLT.

[0227] Дозолимитирующая токсичность (DLT): любое из следующих АЕ, возникающее в течение 7-го дня начального периода лечения и расцениваемое исследователем как возможно, вероятно или определенно связанное с Соединением 1:

- Тромбоцитопения, приводящая к клинически значимым последствиям (т.е. клинически значимому кровотечению\* или необходимости профилактических трансфузий),
- Клинически значимое кровотечение у пациента с числом тромбоцитов  $>50000 \times 10^9/\text{л}$  (50000/мкл), при этом клинически значимое кровотечение определяется как угрожающее жизни событие, не поддающееся контролю и/или приводящее к гемодинамической нестабильности,
  - Любые негематологические нежелательные явления 4 или 5 степени тяжести,
  - Любое негематологическое нежелательное явление 3-й степени с невозможностью восстановления до 2-й степени в течение 7 дней после прекращения приема лекарственного средства, за следующими исключениями:
    - $\geq$  Тошнота, рвота или диарея 3 степени, которые купируются стандартной медицинской помощью
    - $\geq$  Астения 3 степени длительностью менее 14 дней
    - Любые нарушения электролитного баланса 3 степени, не связанные с основным злокачественным новообразованием и сохраняющиеся более 24 часов.

Пациентам, показывающим DLT, может быть скорректирована доза в сторону уменьшения, если продолжение приема Соединения 1 считается безопасным для пациента.

[0228] *Правила остановки.* Лечение прекращают, если: после DLT продолжение приема Соединения 1 будет сочтено небезопасным для пациента, после снижения дозы из-за DLT у пациента не наблюдается значительного улучшения в течение 21 дня, или после временного прекращения приема Соединения 1 из-за количества тромбоцитов ниже  $25 \times 10^9/\text{л}$  (25000/мкл) количество тромбоцитов пациента не возвращается к  $> 50 \times 10^9/\text{л}$  (50000/мкл) в течение 21 дня.

[0229] *Результаты.* В исследование включено 13 пациентов; 85% остались в исследовании.

[0230] Все пациенты на неделе 12 характеризуются следующим:

- Общие симптомы (n=32)
  - 78% (25) отметили снижение оценки симптомов
  - 25% (8) имели снижение  $\geq 50\%$

[0231] Пациенты фазы 2b на 12-й неделе характеризуются следующим:

- Объем селезенки (n=14)
  - 86% (12) имели уменьшение объема селезенки
  - 14% (2) имели снижение  $\geq 35\%$
  - 29% (4) имели снижение  $\geq 20\%$
  - Среднее изменение к 12-ой неделе = -15%

[0232] Абсолютное изменение TSS MPN SAF и объема селезенки в течение 12 недель показано на фиг. 11(a) и (b) соответственно.

[0233] На фиг. 12 показан ход лечения пациента 008-103 в течение 196 дней. Титрование дозы ингибитора LSD1 в мг показано на панели (а). Эффект этого режима дозирования показан на следующих панелях: (b) размер селезенки, см, (c) оценка симптомов, (d) тромбоциты (левая шкала, тыс./мкл) и гемоглобин (правая шкала), (e) лейкоциты и нейтрофилы и (f) показатель утомляемости (10 = наихудший).

### Пример 3. Протокол секвенирования

[0234] Следующие характеристики характеризуют протокол секвенирования:

- Образцы: Зародышевая линия (буккальная или волосая) и «Опухоль» (костный мозг, периферическая кровь, гранулоциты)
- Целевое обогащение: 11736 гибридационных зондов в панели IDT AML, нацеленных на 261 ген (~ 6300 экзонов) с регулярными мутациями в миелоидных новообразованиях
- Секвенирование Illumina: секвенирование парных концов 2x150 п.н., ~ 10 миллионов пар, секвенированных на образец
- Стремление к глубине секвенирования >500, Фактически: >1000 для >90% образцов
- Анализ: выравнивание Барроуза-Уилера (BWA) => VARSCAN2 генотип => IGV для CALR, и т.д.
- Пороговые значения для соматических вызовов: Глубина секвенирования: >20, Частота мутантных (или вариантов) аллелей (VAF): >15%
- Аннотация: все вызовы отправлены в CADD (Combined Annotation Dependent Depletion) при Вашингтонском университете
  - Пороговая оценка CADD >20 определяет 1% самых опасных мутаций

[0235] Отметим следующее:

- 7/22 (32%) продемонстрировали снижение некоторых или всех соматических мутаций
- 12/22 (55%) имели стабильные VAF
- 3/22 (14%) пациента показали повышенные VAF
- Никаких новых мутаций не выявлено у пациентов, наблюдаемых до дня 550+
- Нет прогрессирования до AML

[0236] В следующей таблице представлены как соматические мутации MPN, так и другие соматические мутации, а также VAF при последующем наблюдении

ID пациента	MPN соматические	Другие соматические	VAF при последующем наблюдении
003-101	JAK2_V617F	U2AF1_Q157R	Стабильный
006-101	JAK2_V617F	ZBTB33_Y56S	Частичное улучшение
006-102	JAK2_V617F		Стабильный
007-104	CALR_52b_del	ASXL1_-642X	Стабильный
008-101	MPL_W515K	ASXL1_Q780*	Частичное улучшение

008-102	JAK2_V617F	TET2_NRN1890-		Стабильный
008-103	CALR_K385NCX	ASXL1_R693*		Частичное улучшение
008-105	JAK2_V617F	ASXL1_-884X	PRPF8_R1832C	Стабильный
010-102	CALR_52b_del	CBL_C396S	ASXL1_-642X	Частичное увеличение
		EZH2_-262X		
010-103	JAK2_V617F	CBL_R420Q	EZH2_F145L	Стабильный
		CNTN5_P220L	ASXL1_QLL695HX	
010-104	JAK2_V617F	SF3B1_K700E	DNMT3A_V687G	Улучшение
		TET2_S1284F		
010-105	JAK2_V617F	DNMT3A_V687G		Стабильный
011-101	MPL_W515K			Увеличение
011-102	JAK2_V617F	ASXL1_Q768*	PRPF8_D1598V	Стабильный
		FREM2_S204R		
011-104	JAK2_V617F	MAP1B_D1587N	ASXL1_-642X	Стабильный
011-105	JAK2_V617F	ASXL1_HHCHREAA		Улучшение
		630X		
012-101	JAK2_V617F			Стабильный
020-102	CALR_52b_del			Увеличение
021-101	CALR_KKRK374X			Стабильный
022-101	JAK2_V617F			Улучшение
030-101	JAK2_V617F	EZH2_F120X	GPR183_T81I	Стабильный
032-101	JAK2_V617F	ASXL1_-642X		Улучшение

[0237] В следующей таблице представлены примеры изменения VAF для пациентов исследования.

Пациент	День	Мутация (мутации)	Диагноз	Результат
010-104	91	SF3B1_K700E	26,37	Вероятный CHIP <i>DNMT3A</i> , за которым следует <i>TET2</i> , за которым следует <i>JAK2/SF3B1</i> – редуцирован только клон, несущий <i>JAK2/SF3B1</i> , лечение связано с резким улучшением уровня Hb и нормализацией количества тромбоцитов.
		DNMT3A_V687G	94,96	
		JAK2_V617F	27,02	
		TET2_S1284F	45,72	

Пациент	День	Мутация (мутации)	Диагноз	Результат
011-105	182	ASXL1_HHCHREAA630X	21,48	Непропорциональное снижение клона <i>JAK2</i> по сравнению с <i>ASXL1</i> ; значительное улучшение Hb, объема селезенки и количества WBC.
		JAK2_V617F	41,45	
008-101	112	MPL_W515K	94,64	Клон <i>ASXL1</i> редуцирован, в то время как гомозиготный <i>MPL</i> практически не затрагивается, хороший клинический ответ, но ответ вымывания на 84-й день был направлен на снижение — согласие было отозвано ( <i>Вымывание позже исключено.</i> )
		ASXL1_Q780*	18,58	
008-103	570	CALR_K385NCX	22,42	Клон <i>ASXL1</i> уменьшился, в то время как клон <i>CALR</i> стал гомозиготным - отличное клиническое улучшение в течение первого года, но увеличение объема селезенки уменьшилось. Перевод на трансплантацию.
		ASXL1_R693*	29,22	

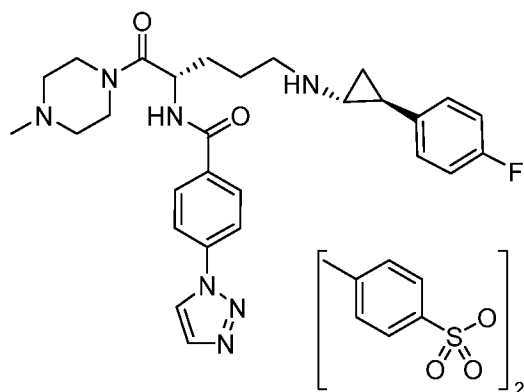
[0238] Из предшествующего описания специалист в данной области может легко определить основные характеристики настоящего изобретения и, не отступая от его сущности и объема, может сделать различные изменения и модификации настоящего изобретения для того, чтобы адаптировать его к различным применениям и условиям.

[0239] Подробное описание, изложенное выше, предоставлено для того, чтобы помочь специалистам в данной области техники применять настоящее изобретение на практике. Однако раскрытие, описанное и заявленное в настоящем документе, не должно быть ограничено конкретными вариантами осуществления, раскрытыми в настоящем документе, поскольку эти варианты осуществления предназначены для иллюстрации нескольких аспектов настоящего изобретения. Предполагается, что любые эквивалентные варианты осуществления входят в объем настоящего изобретения. Действительно, различные модификации раскрытия в дополнение к показанным и описанным в настоящем документе станут очевидными специалистам в данной области техники из предшествующего описания, которые не отходят от сущности или объема настоящего изобретения. Такие модификации также подпадают под объем прилагаемой формулы изобретения.

[0240] Все ссылочные источники, процитированные в настоящем описании, настоящим включены в качестве ссылки. Обсуждение ссылочных источников в настоящем документе предназначено только для того, чтобы обобщить утверждения, сделанные их авторами, и не делается никакого признания того, что какой-либо ссылочный источник представляет собой предшествующий уровень техники, относящийся к патентоспособности. Заявитель оставляет за собой право оспаривать точность и актуальность цитируемых ссылочных источников.

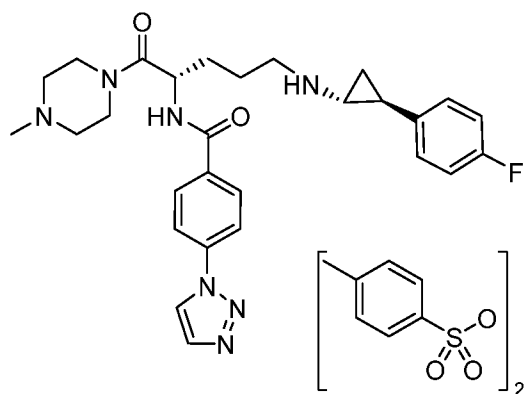
**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Способ лечения миелопролиферативного новообразования, предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

2. Способ снижения концентрации одного или более белковых факторов роста, секретируемых клетками костного мозга, которые активируют один или более клеточных типов, которые секретируют ретикулин и коллаген, у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



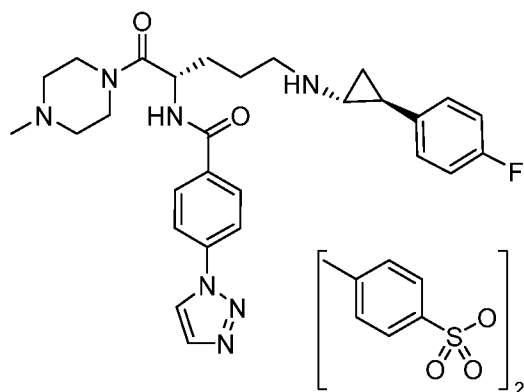
(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

3. Способ по п. 2, где один или более белковых факторов роста выбраны из тромбоцитарного фактора роста, фактора роста сосудистого эндотелия, трансформирующего ростового фактора бета 1 и тромбоцитарного фактора 4 (aka CXCL4).

4. Способ по п. 2 или 3, где клетки костного мозга, которые активируют один или более клеточных типов, которые секретируют ретикулин и коллаген, представляют собой мегакариоциты.

5. Способ по любому из пп. 2-4, где один или более клеточных типов, которые секретируют ретикулин и коллаген, выбраны из стромальных клеток и/или фибробластов и/или миофибробластов костного мозга.

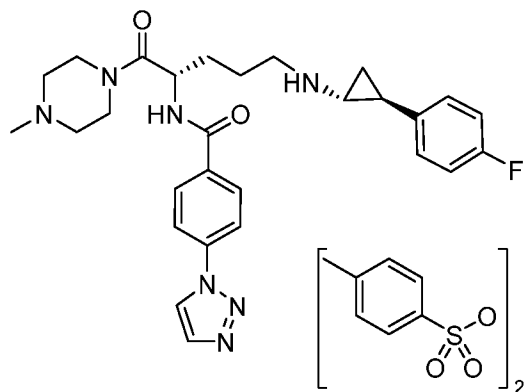
6. Способ снижения концентрации одного или более белковых факторов роста, секретируемых клетками костного мозга, которые нарушают функцию остеокластов костного мозга снижать количество остеосклероза костного мозга, у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

7. Способ по п. 6, где клетки костного мозга, которые нарушают функцию остеокластов костного мозга снижать количество остеосклероза костного мозга у субъекта, представляют собой мегакариоциты.

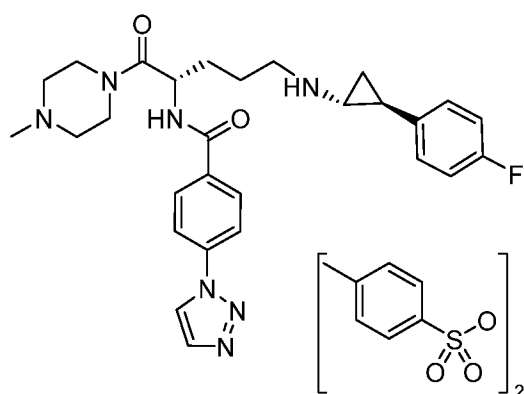
8. Способ снижения клеточности костного мозга до нормальной клеточности в соответствии с возрастом с менее 5% бластных клеток у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

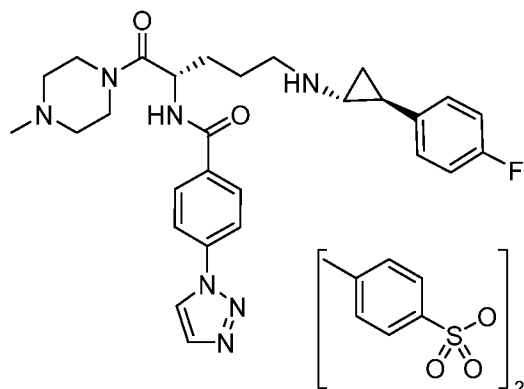
9. Способ поддержания количества бластных клеток костного мозга или снижения количества бластных клеток костного мозга до  $<5\%$  у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли





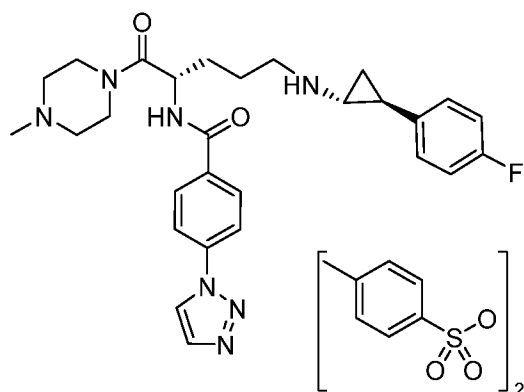
(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

10. Способ подавления злокачественных миелоидных клеток у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающий введение субъекту количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



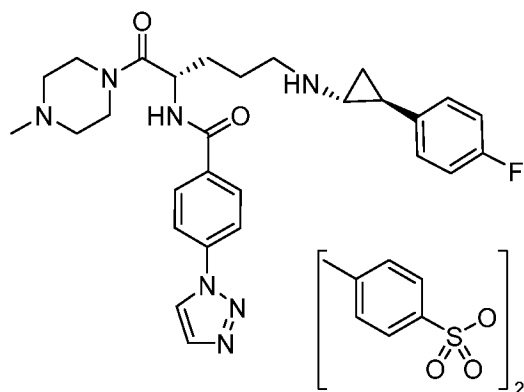
(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

11. Способ снижения нагрузки злокачественных клеток, измеренной посредством частоты мутантного аллеля миелоидных клеток, у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



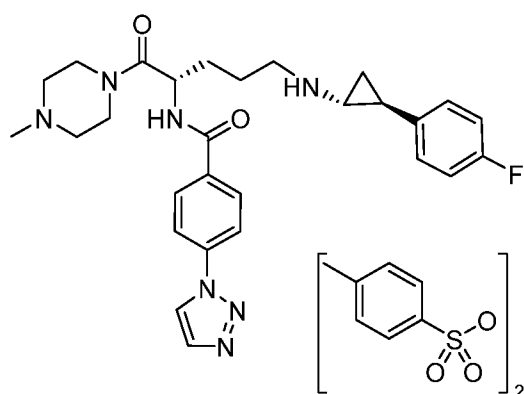
(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

12. Способ элиминации злокачественных миелоидных клеток у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение терапевтически эффективного и безвредного количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



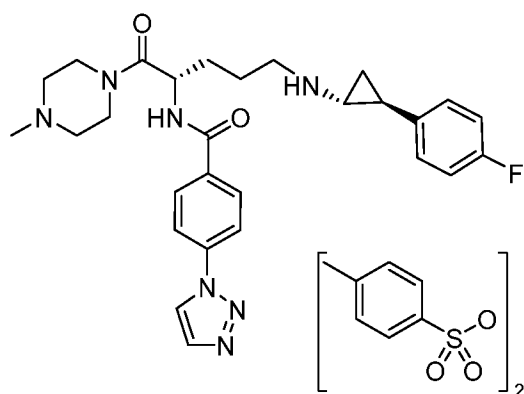
(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

13. Способ снижения ретикулинового и коллагенового фиброза костного мозга у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающий введение субъекту количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

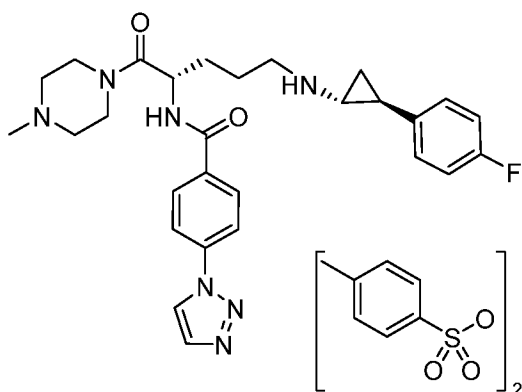
14. Способ снижения уровней в плазме одного или более воспалительных цитокинов у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающий введение субъекту количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

15. Способ по п. 14, где один или более воспалительных цитокинов представляют собой один или более цитокинов, выбранных из IFN- $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, CXCL4, и CXCL10, S100A9 и RANTES.

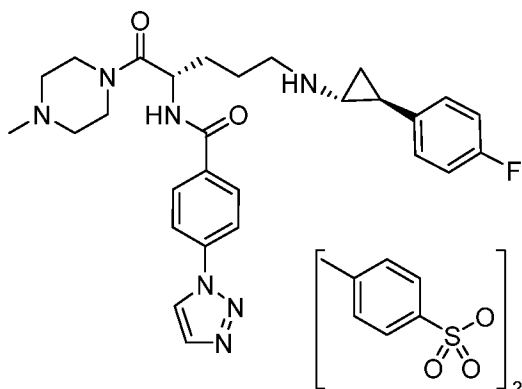
16. Способ снижения нагрузки мутантного аллеля у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающий введение субъекту количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

17. Способ по п. 16, где указанный мутантный аллель представляет собой аллель одного или более генов, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*) и кальретикулина (*CALR*).

18. Способ снижения патологически повышенной массы эритроцитов у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение субъекту количества *N*-[*(2S)*-5-{[*(1R,2S)*]-2-(4-фторфенил)циклопропил}амино]-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

19. Способ по п. 18, где указанный субъект страдает истинной полицитемией.

20. Способ по п. 18, где повышенную массу эритроцитов измеряют как гематокрит или гемоглобин в крови.

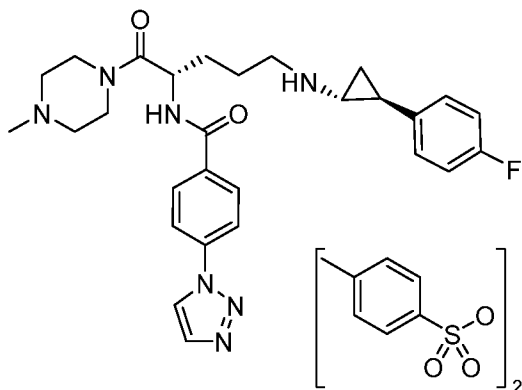
21. Способ по п. 20, где измеренный гемоглобин в крови имеет значение более 16,5 г/дл у субъекта мужского пола или более 16,0 г/дл у субъекта женского пола.

22. Способ по п. 20, где измеренный гематокрит составляет более 49% у субъекта мужского пола или более 48% у субъекта женского пола.

23. Способ по п. 18, где повышенную массу эритроцитов измеряют посредством изотопного измерения массы эритроцитов.

24. Способ по п. 23, где повышенная масса эритроцитов на более 25% выше среднего нормального прогнозируемого значения.

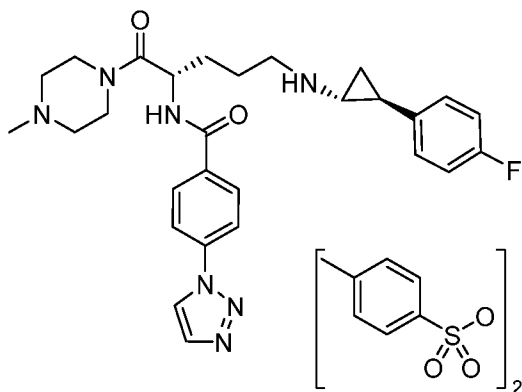
25. Способ снижения массы злокачественных миелоидных клеток у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающий введение субъекту количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

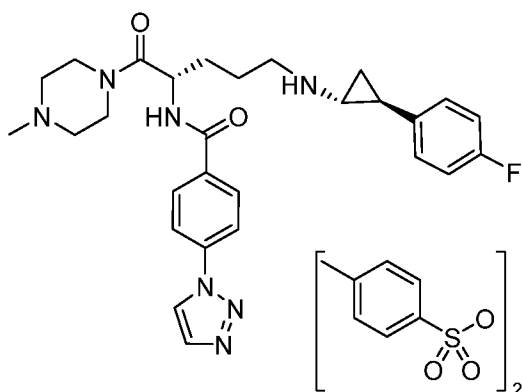
26. Способ по п. 25, где клетки представляют собой нейтрофилы.

27. Способ снижения отклоняющегося от нормы размера или объема селезенки у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение субъекту количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

28. Способ снижения количества экстрамедуллярного гемопоэза у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение субъекту количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли

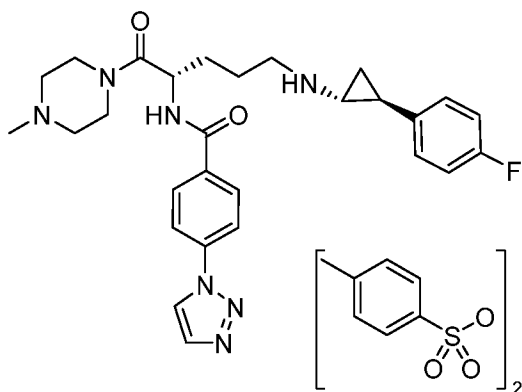


(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

29. Способ по п. 28, где количество экстрамедуллярного гемопоэза измеряют посредством спленомегалии.

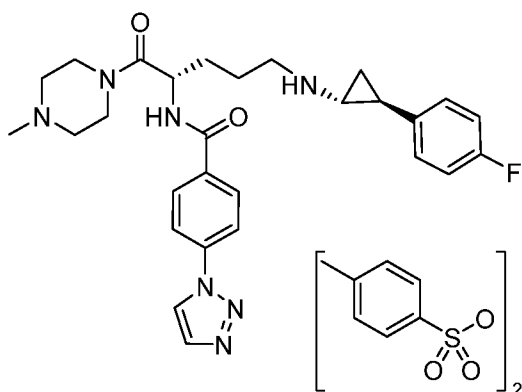
30. Способ по п. 29, где спленомегалия у указанного субъекта снижается на по меньшей мере 35 %.

31. Способ снижения частоты тромбоза и кровоизлияния у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ предусматривает введение количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

32. Способ снижения системных симптомов миелофиброза, измеренных посредством проведенного опроса субъекта, у субъекта, страдающего миелофиброзом, причем способ предусматривает введение субъекту количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



(«Соединение 1»), достаточного для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

33. Способ по п. 32, где указанные системные симптомы содержат один или более симптомов, выбранных из утомляемости, чувства быстрого насыщения, желудочно-кишечного дискомфорта, сонливости, проблем с концентрацией внимания, онемения и/или покалывания в руках и ногах, ночной потливости, прурита, боли в костях, жара более  $100^\circ \text{F}$  и необъяснимого снижения веса.

34. Способ по п. 32 или 33, где указанный опрос субъекта представляет собой Шкалу общей оценки симптомов формы оценки миелопролиферативного новообразования (MPN-SAF:TSS).

35. Способ по п. 34, где один или более симптомов снижаются на по меньшей мере 50% в их градации согласно оценке MPN-SAF:TSS.

36. Способ по любому из пп. 1-35, где субъект, который нуждается в этом, имеет миелопролиферативное новообразование.

37. Способ по п. 36, где миелопролиферативное новообразование представляет собой миелофиброз (MF).

38. Способ по п. 37, где миелофиброз выбран из первичного миелофиброза (PMF), миелофиброза на фоне PV (PPV-MF) и миелофиброза на фоне ET (PET-MF).

39. Способ по п. 38, где миелофиброз представляет собой первичный миелофиброз (PMF).

40. Способ по п. 36, где миелопролиферативное новообразование представляет собой истинную полицитемию (PV).

41. Способ по п. 36, где миелопролиферативное новообразование представляет собой эссенциальную тромбоцитемию (ET).

42. Способ по любому из пп. 1-41, где указанный субъект имеет или злокачественные миелоидные клетки субъекта имеют мутацию в одном или более генах, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*) и кальретикулина (*CALR*).

43. Способ по п. 42, дополнительно предусматривающий стадию определения, имеет ли указанный субъект мутации в одном или более генах, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*) и кальретикулина (*CALR*).

44. Способ по любому из пп. 1-43, где количество Соединения 1 является достаточным для поддержания у субъекта количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $75 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

45. Способ по любому из пп. 1-44, где количество Соединения 1 составляет от приблизительно 0,5 мг/кг/день до приблизительно 1,5 мг/кг/день.

46. Способ по п. 45, где количество Соединения 1 составляет от приблизительно 0,7 мг/кг/день до приблизительно 1,2 мг/кг/день.

47. Способ по любому из пп. 1-44, где количество Соединения 1 составляет от приблизительно 40 мг до приблизительно 100 мг в день.

48. Способ по п. 47, где количество Соединения 1 составляет от приблизительно 50 мг до приблизительно 85 мг в день.

49. Способ по любому из пп. 1-44, где субъекту вводят начальную дозу 0,5 мг/кг/день Соединения 1, затем через одну неделю:

если количество тромбоцитов составляет  $\geq 90 \times 10^9$  тромбоцитов/л и % сокращения тромбоцитов составляет  $< 50\%$  от предшествующей проверки, тогда к дозе, вводимой субъекту, добавляют 0,2 мг/кг/день Соединения 1 к дневной дозе,

если количество тромбоцитов составляет  $\geq 90 \times 10^9$  тромбоцитов/л и % сокращения тромбоцитов составляет  $\geq 50\%$  от предшествующей проверки, тогда к дозе, вводимой субъекту, добавляют 0,1 мг/кг/день Соединения 1 к дневной дозе,

если количество тромбоцитов составляет от  $40 \times 10^9$  тромбоцитов/л до  $89 \times 10^9$  тромбоцитов/л, тогда дневную дозу Соединения 1 поддерживают,

если количество тромбоцитов составляет от  $25 \times 10^9$  тромбоцитов/л до  $39 \times 10^9$  тромбоцитов/л, тогда дозу, вводимую субъекту, регулируют путем снижения применяемой в настоящее время дневной дозы в мг/кг Соединения 1 на 25%,

если количество тромбоцитов составляет  $< 25 \times 10^9$  тромбоцитов/л, тогда приостанавливают введение дозы до тех пор, пока тромбоциты не достигнут  $> 50 \times 10^9$  тромбоцитов/л, затем дозу, вводимую субъекту, регулируют путем введения Соединения 1 при 50% от дозы, которую вводят, когда количество тромбоцитов падает ниже  $25 \times 10^9$  тромбоцитов/л, и

необязательно приблизительно каждую неделю в ходе курса терапии повторяют стадии оценки количества тромбоцитов и регулирования дозы до тех пор, пока количество тромбоцитов у субъекта не составит от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

50. Способ лечения миелопролиферативного новообразования и достижения количества тромбоцитов от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л у субъекта, предусматривающий:

введение начальной дозы 0,5 мг/кг/день Соединения 1,

оценку количества тромбоцитов у субъекта через приблизительно одну неделю,

если количество тромбоцитов составляет  $\geq 90 \times 10^9$  тромбоцитов/л и % сокращения тромбоцитов составляет  $< 50\%$  от предшествующей проверки, тогда добавление 0,2 мг/кг/день Соединения 1 к дневной дозе,

если количество тромбоцитов составляет  $\geq 90 \times 10^9$  тромбоцитов/л и % сокращения тромбоцитов составляет  $\geq 50\%$  от предшествующей проверки, тогда добавление 0,1 мг/кг/день Соединения 1 к дневной дозе,

если количество тромбоцитов составляет от  $40 \times 10^9$  тромбоцитов/л до  $89 \times 10^9$  тромбоцитов/л, тогда поддержание применяемой в настоящее время дневной дозы Соединения 1,

если количество тромбоцитов составляет от  $25 \times 10^9$  тромбоцитов/л до  $39 \times 10^9$  тромбоцитов/л, тогда снижение применяемой в настоящее время дневной дозы в мг/кг Соединения 1 на 25%,

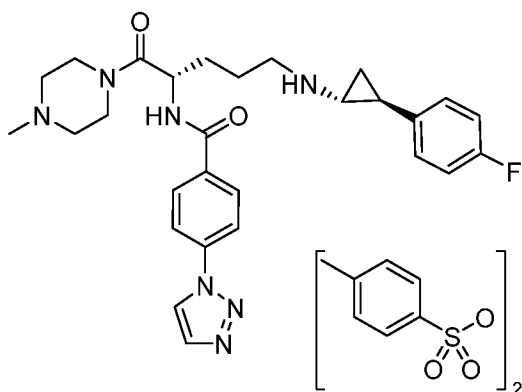


если количество тромбоцитов составляет  $< 25 \times 10^9$  тромбоцитов/л, тогда приостановление введения дозы до тех пор, пока тромбоциты не достигнут  $> 50 \times 10^9$  тромбоцитов/л, затем введение Соединения 1 при 50% от дозы, которую вводят, когда количество тромбоцитов падает ниже  $25 \times 10^9$  тромбоцитов/л, и

необязательно повторение стадий оценки количества тромбоцитов и регулирования дозы приблизительно каждую неделю до тех пор, пока количество тромбоцитов у субъекта не составит от приблизительно  $50 \times 10^9$  до приблизительно  $100 \times 10^9$  тромбоцитов/л.

51. Способ лечения миелопролиферативного новообразования у субъекта, нуждающегося в этом, где субъект имеет мутантный аллель, причем указанный способ предусматривает:

введение субъекту количества *N*-[(2*S*)-5-{[(1*R*,2*S*)-2-(4-фторфенил)циклопропил]амино}-1-(4-метилпиперазин-1-ил)-1-оксопентан-2-ил]-4-(1*H*-1,2,3-триазол-1-ил)бензамида бис-тозилатной соли



(«Соединение 1»).

52. Способ по п. 51, где указанный мутантный аллель представляет собой аллель одного или более генов, выбранных из Янус-киназы 2 (*JAK2*), такой как *JAK<sup>V617F</sup>*, онкогена вируса миелопролиферативного лейкоза (*MPL*), такой как *MPL<sup>W515K</sup>*, и кальретикулина (*CALR*), такой как *CALR<sup>S2b\_del</sup>*, *CALR<sup>K385NCX</sup>* или *CALR<sup>KKRK374X</sup>*.

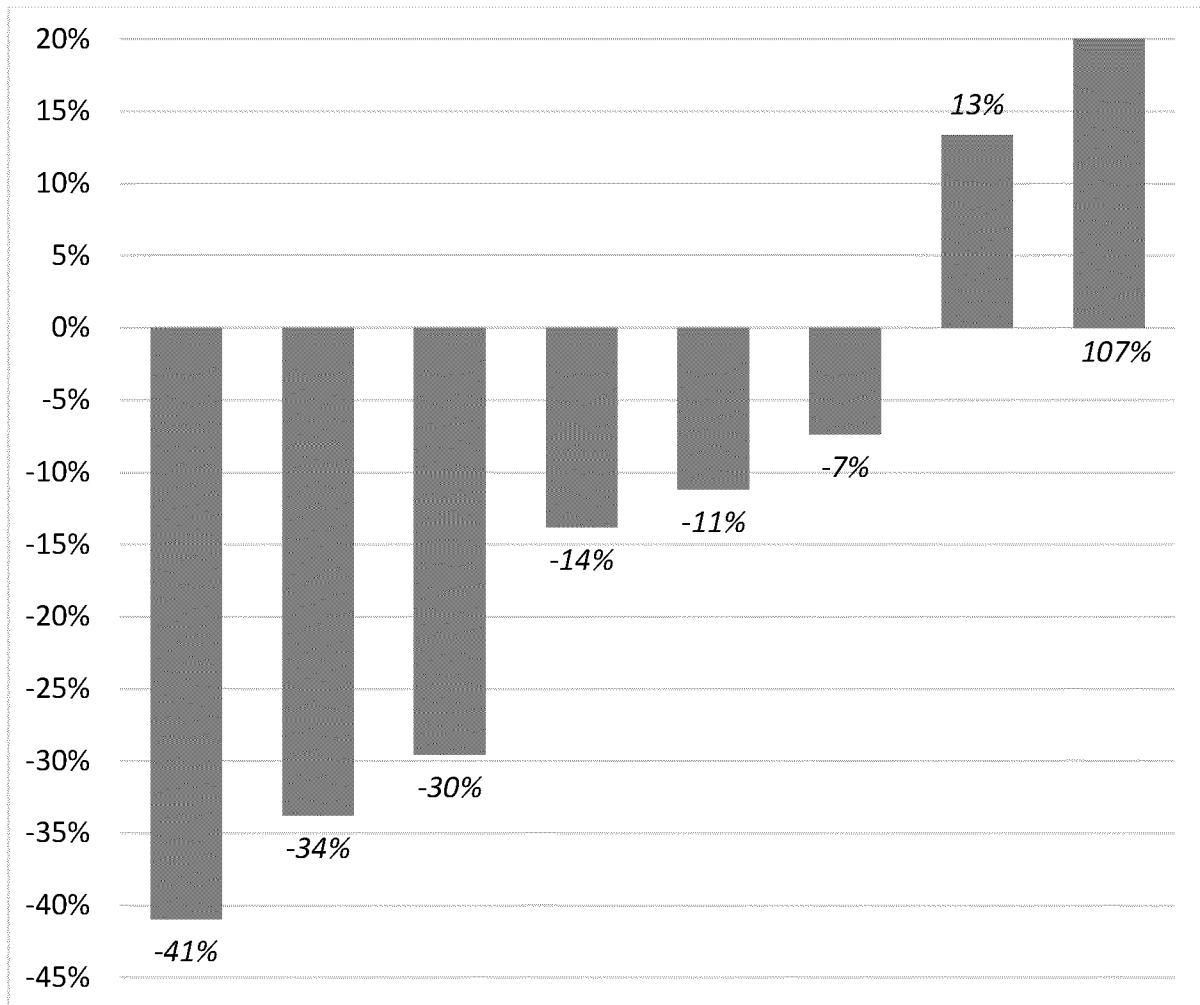
53. Способ по п. 51, где указанный мутантный аллель представляет собой аллель одного или более генов, выбранных из *DNMT3A*, *IDH1/2*, *TET2*, *ASXL1*, *EZH2*, *TP53*, *NF1*, *NRAS*, *KRAS*, *SF3B1*, *U2AF1*, *SRSF2*, *RUNX1*, *CBL*, *ZBTB33*, *PRPF8*, *CNTN5*, *FREM2*, *MAP1B* и *GPR183*.

54. Способ по п. 53, где указанный мутантный аллель представляет собой один или более из *ASXL1<sup>HNCHREAA630X</sup>*, *ASXL1<sup>-642X</sup>*, *ASXL1<sup>Q780\*</sup>*, *ASXL1<sup>R693</sup>*, *ASXL1<sup>-884X\*</sup>*, *ASXL1<sup>-642X</sup>*, *ASXL1<sup>QLL695HX</sup>* и *ASXL1<sup>Q768\*</sup>*.

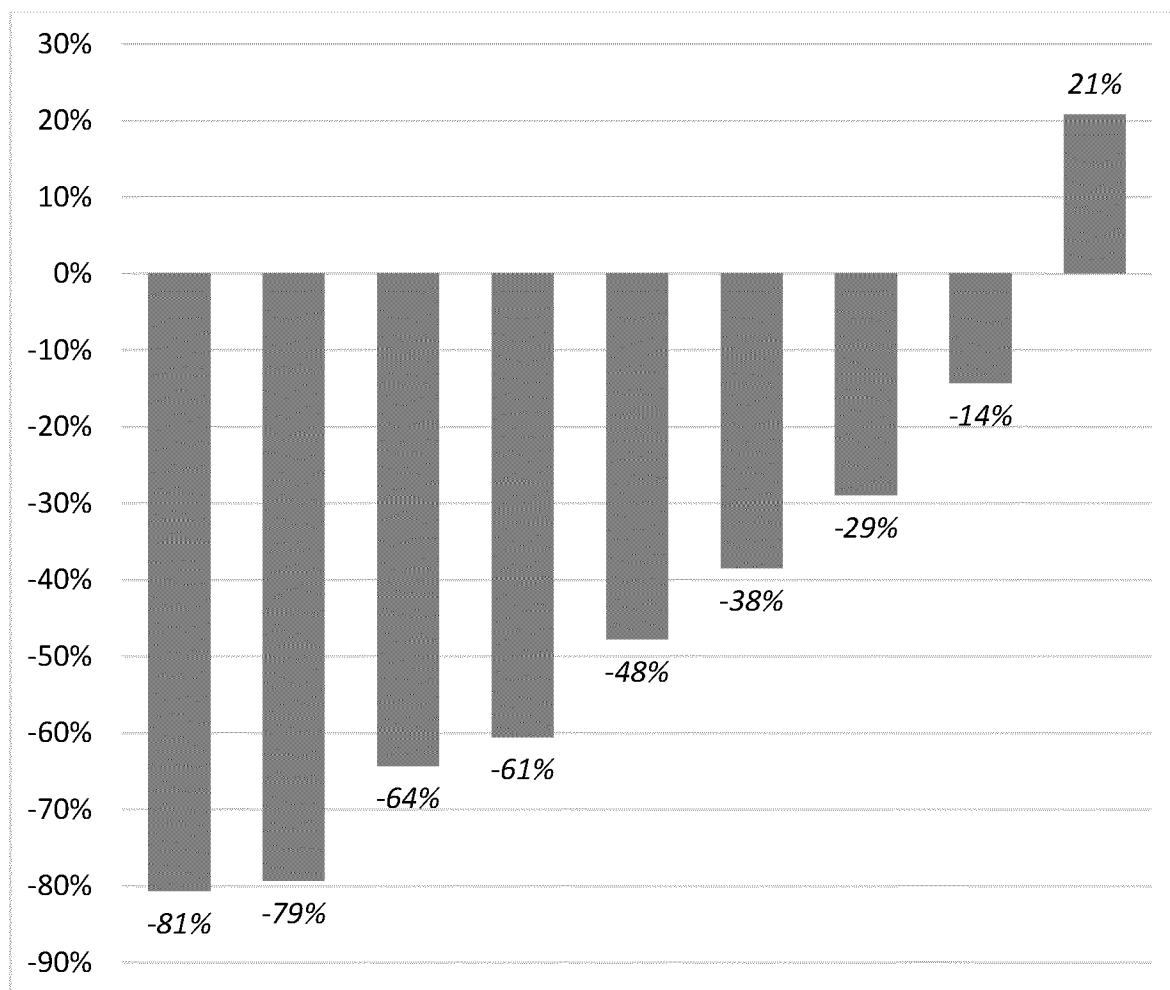
55. Способ по п. 51, где указанный мутантный аллель представляет собой аллель гена Biorientation Of Chromosomes In Cell Division 1 Like 1 (*BOD1L1*).

56. Способ по п. 55, где мутантный аллель представляет собой один или более из *BOD1L1<sup>S1623C</sup>*, *BOD1L1<sup>E1612K</sup>*, *BOD1L1<sup>K1136N</sup>*, *BOD1L1<sup>R1074W</sup>*, *BOD1L1<sup>Y812C</sup>*, *BOD1L1<sup>E289K</sup>* и *BOD1L1<sup>R508S</sup>*.

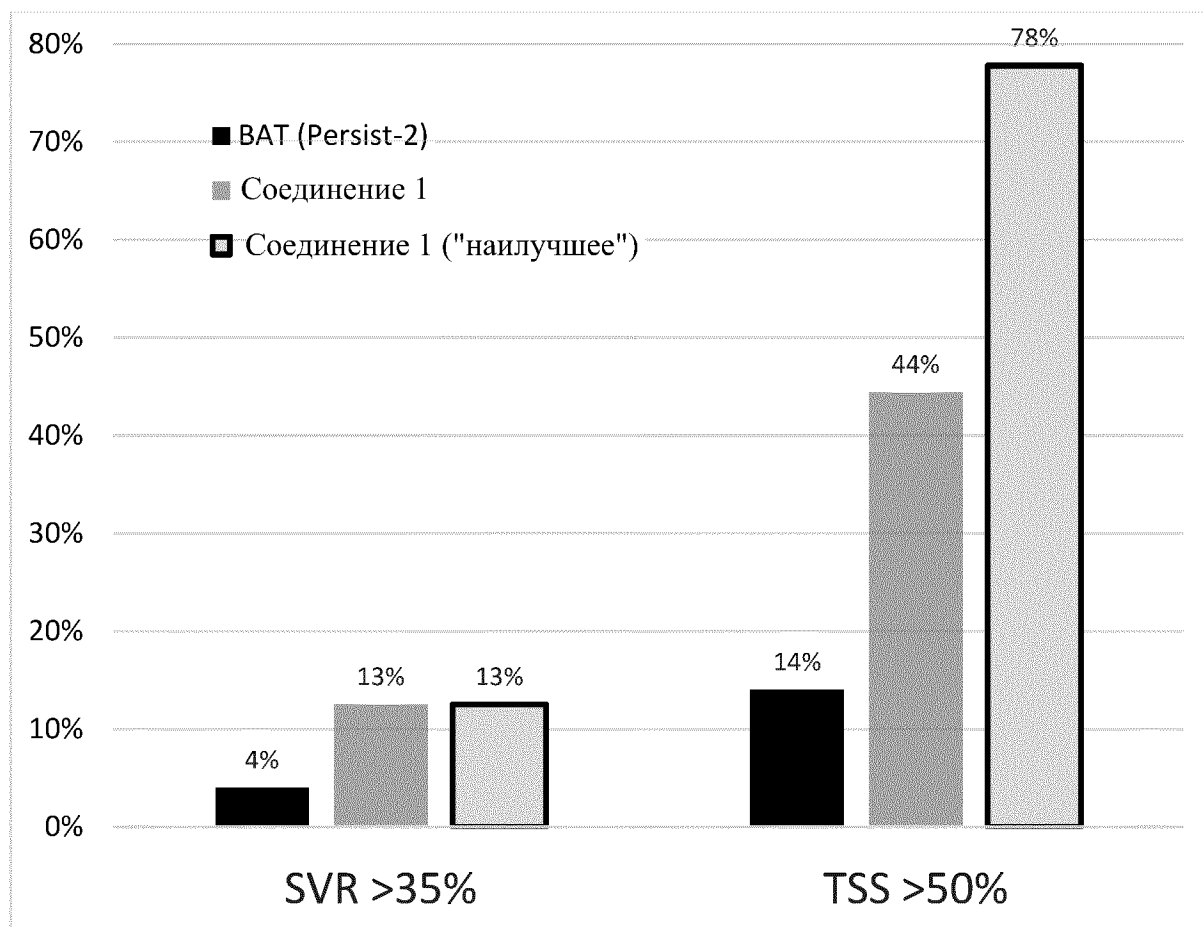
Фиг. 1.



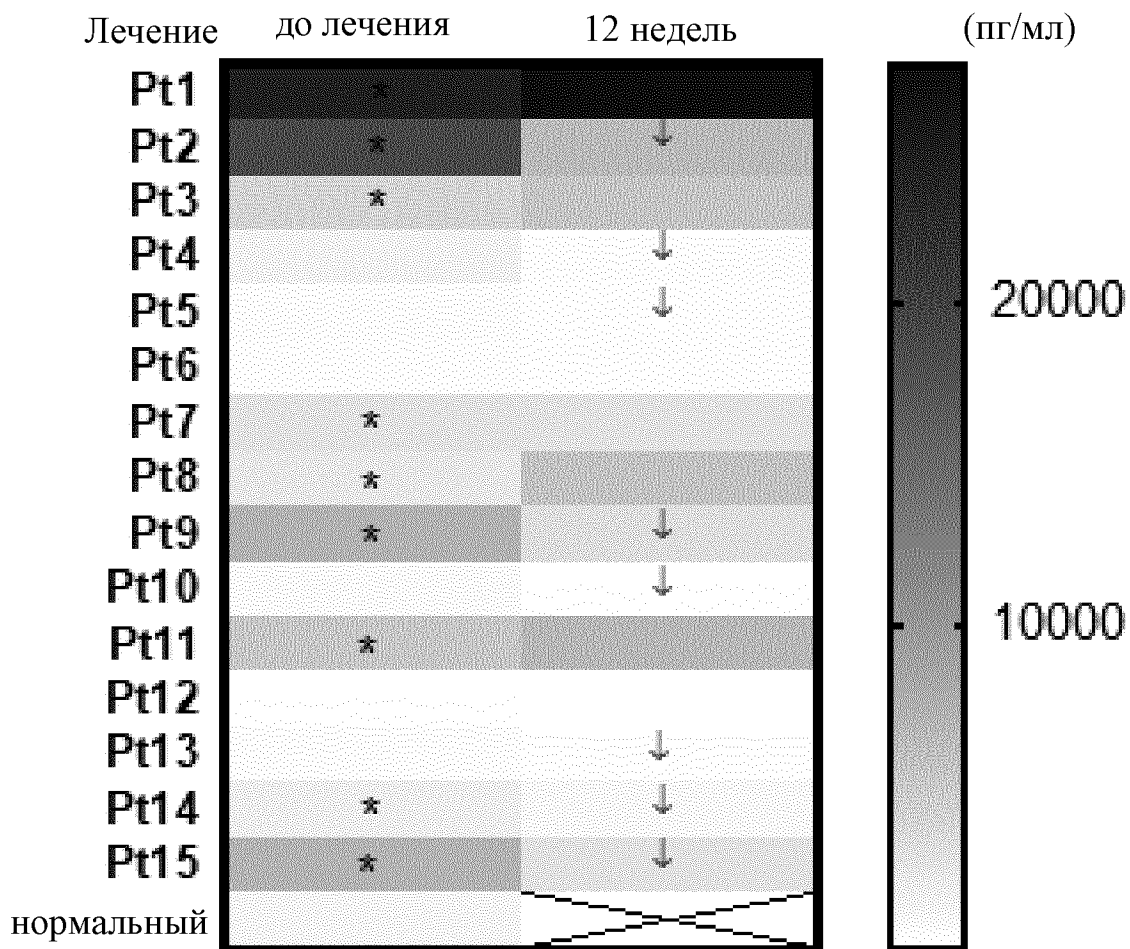
Фиг. 2



Фиг. 3



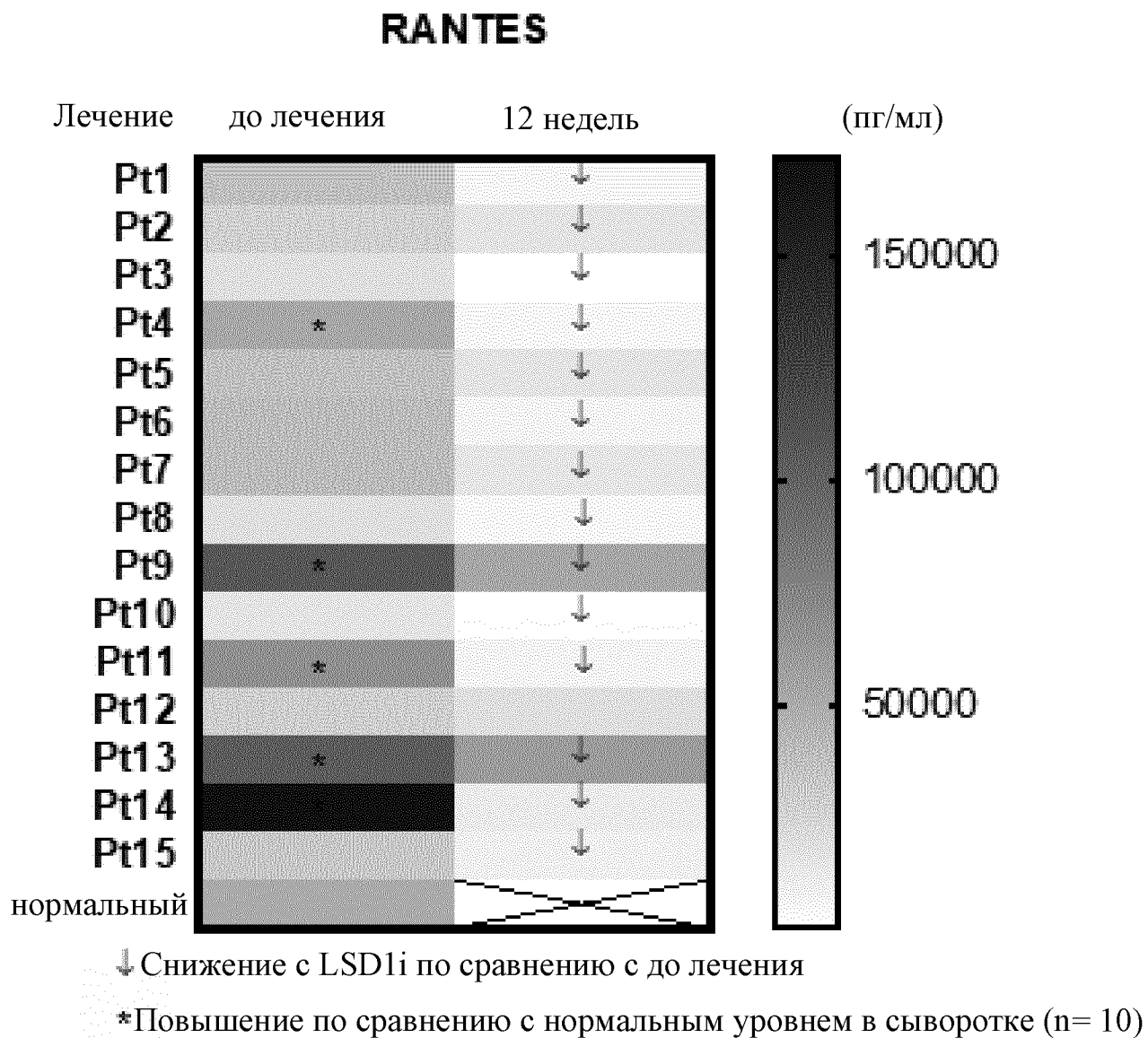
Фиг. 4

**S100A9**

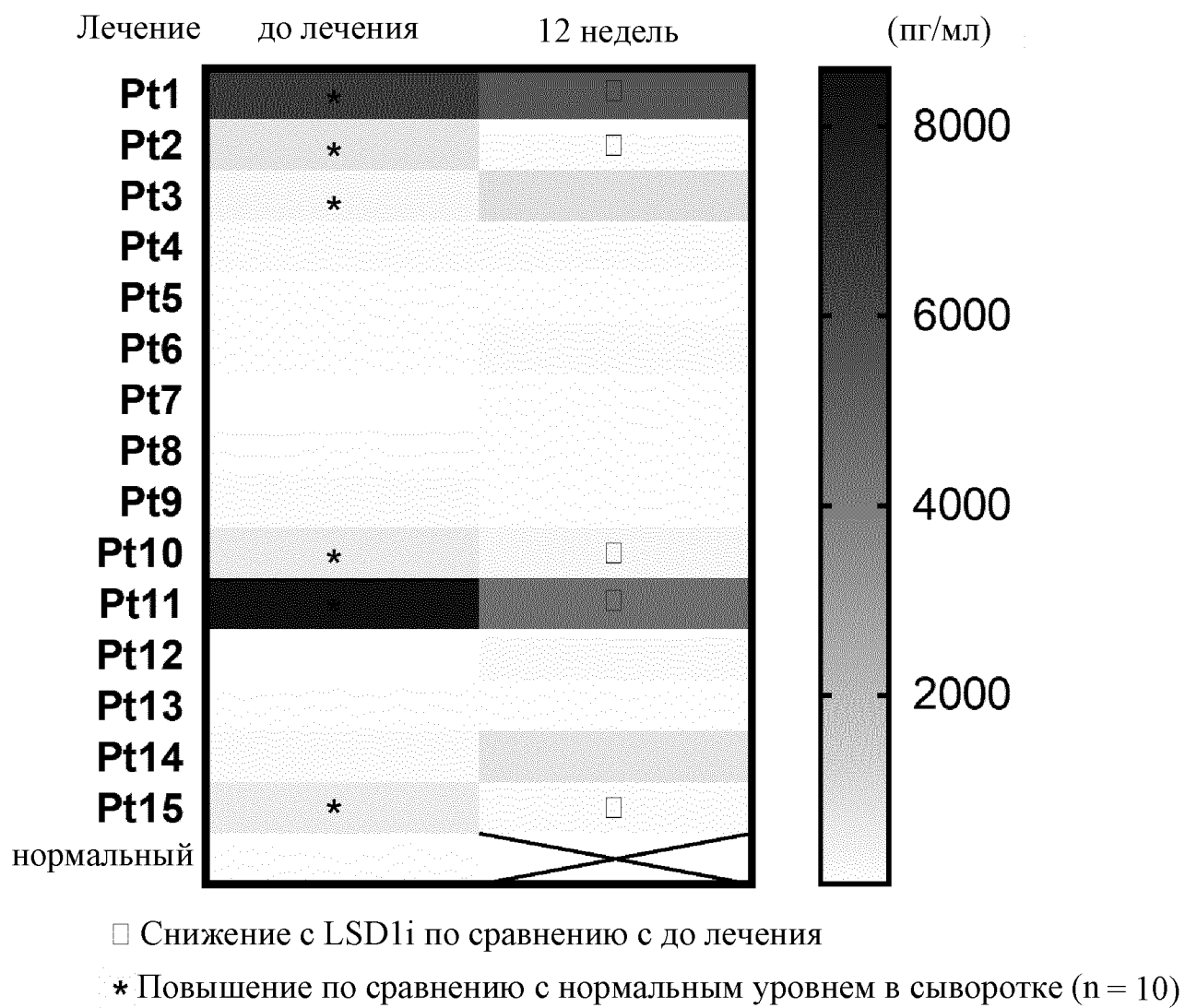
↓ Снижение с LSD1i по сравнению с до лечения

\* Повышение по сравнению с нормальным уровнем в сыворотке (n= 10)

Фиг. 5

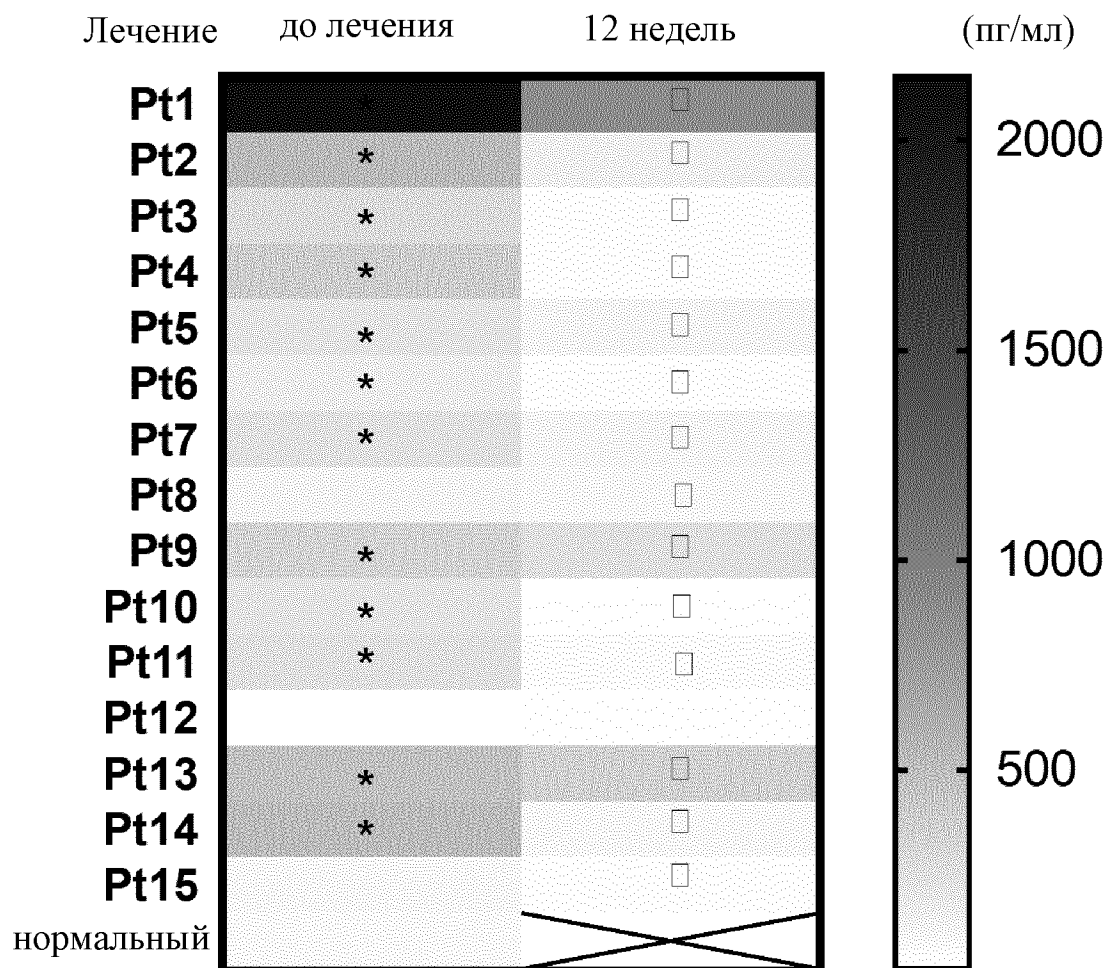


Фиг. 6

**IL-8**

Фиг. 7

## VEGF

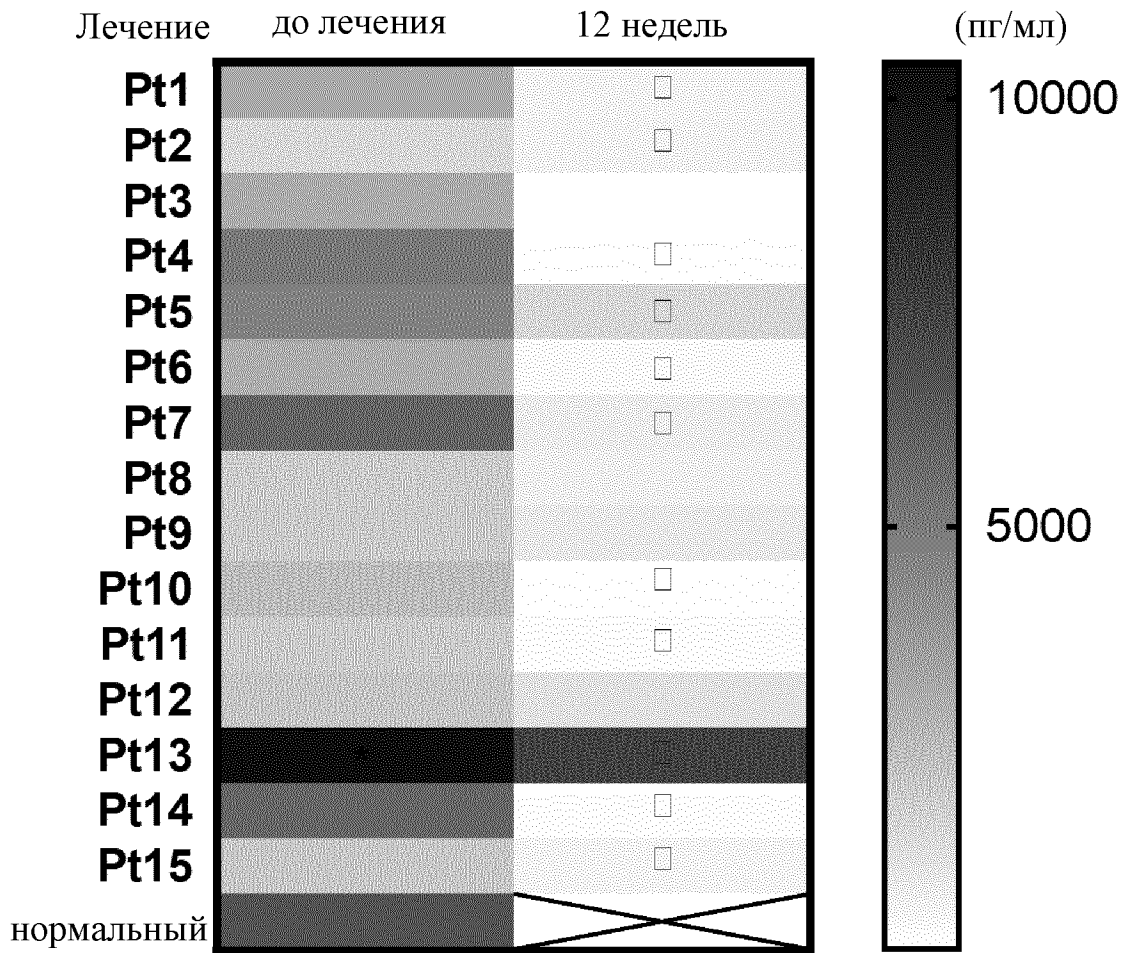


□ Снижение с LSD1i по сравнению с до лечения

\*Повышение по сравнению с нормальным уровнем в сыворотке (n= 10)

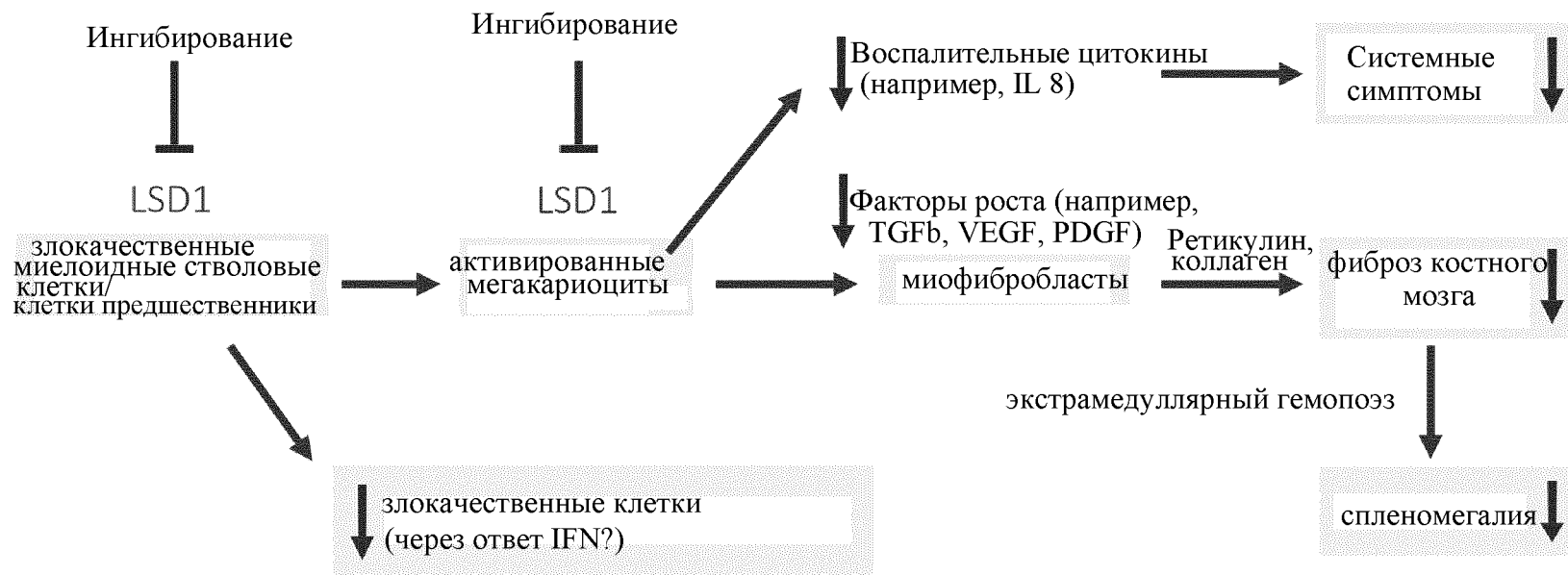


Фиг. 8

**PDGF-BB**

□ Снижение с LSD1i по сравнению с до лечения

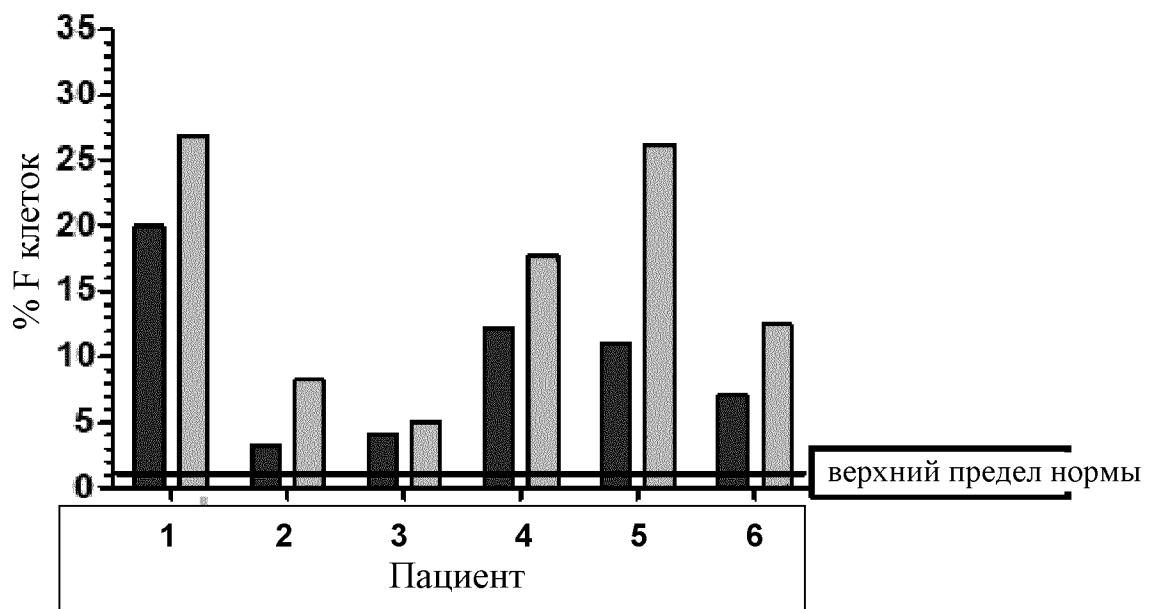
\*Повышение по сравнению с нормальным уровнем в сыворотке (n= 10)



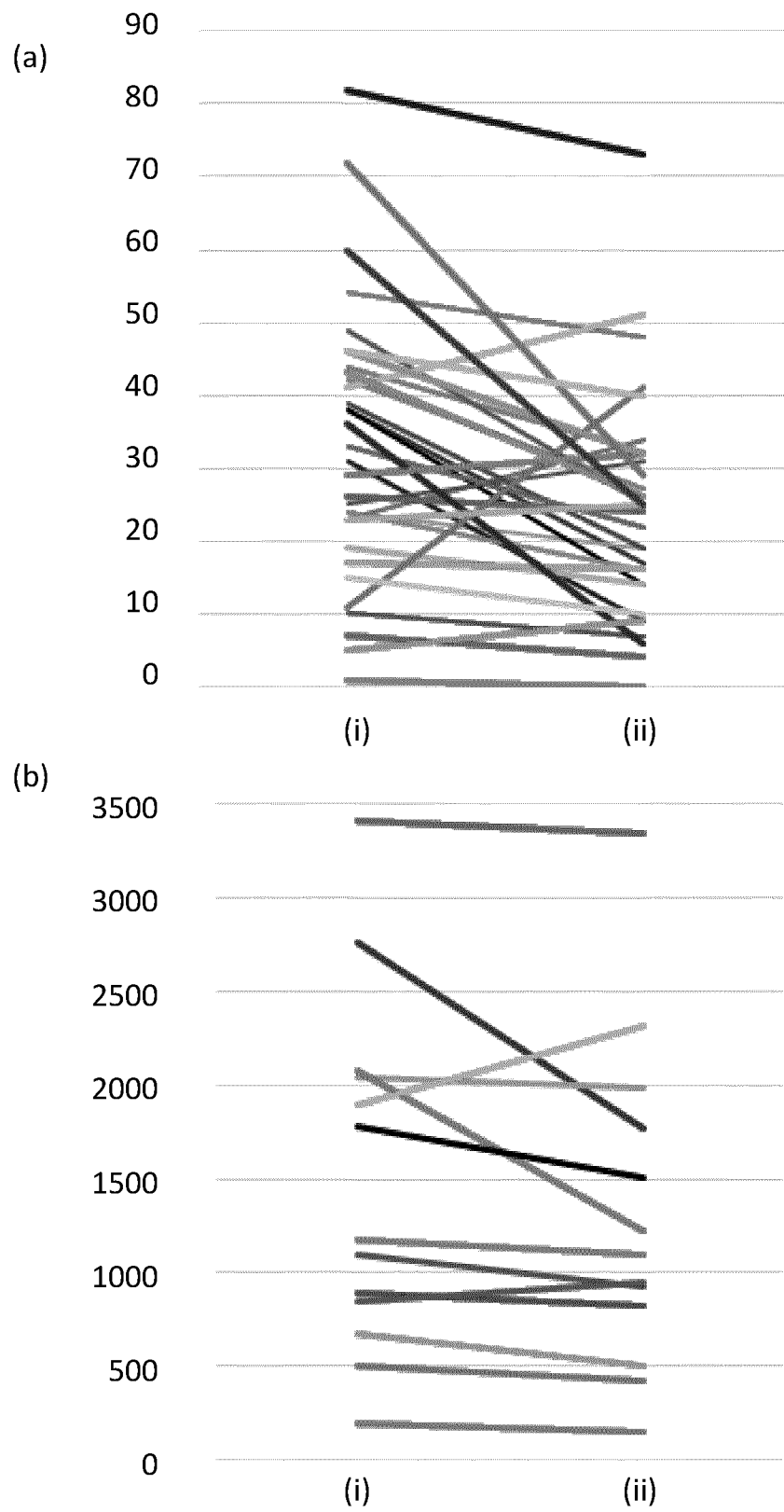
Фиг. 9

Фиг. 10

% F клеток в день 0 по сравнению с день 84



Фиг. 11



Фиг. 12

