

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202293445** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
**2023.02.02**

(51) Int. Cl. *A61K 31/538* (2006.01)  
*A61K 31/519* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2020.09.14**

---

(54) **КОМБИНАЦИЯ РУКСОЛИТИНИБА С INCV057643 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ  
МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ**

---

(31) **63/034,214**

(72) Изобретатель:

(32) **2020.06.03**

**Стаббз Мэттью, Лю Филип С. (US)**

(33) **US**

(86) **PCT/US2020/050753**

(74) Представитель:

(87) **WO 2021/247064 2021.12.09**

**Медведев В.Н. (RU)**

(71) Заявитель:

**ИНСАЙТ КОРПОРЕЙШН (US)**

---

(57) Изобретение относится к лечению миелопролиферативных новообразований с использованием ингибитора JAK1/JAK2, руксолитиниба, в комбинации с ингибитором белка BET, 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-оном, причем комбинация неожиданно проявляет синергизм.

**A1**

**202293445**

**202293445**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-576549EA/061

### КОМБИНАЦИЯ РУКСОЛИТИНИБА С INCB057643 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

#### ТРЕБОВАНИЕ ПРИОРИТЕТА

Данная заявка претендует на приоритет предварительной заявки на патент США № 63/034,214, поданной 3 июня 2020 г., которая полностью включена в данный документ посредством ссылки.

#### ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ.

Данная заявка относится к лечению миелопролиферативных новообразований с использованием ингибитора JAK1/JAK2, руксолитиниба, в комбинации с ингибитором белка BET, 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро -1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-оном, причем комбинация неожиданно проявляет синергизм.

#### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Соединение 1 представляет собой низкомолекулярный ингибитор ацилсвязывающих бромодоменов, обнаруженных в белках бромодомена и экстратерминального домена (BET). Четыре члена семейства (BRD2, 3, 4, T) облегчают транскрипцию, связывая ацетилированные гистоны и рекрутируя комплексы инициации и элонгации транскрипции, тем самым выступая в качестве связующего звена между хроматином и активацией транскрипции (см. Shi, J., and Vakoc, C.R., « The Mechanisms Behind the Therapeutic Activity of BET Bromodomain Inhibition» *Molecular Cell* 2014; 54, 728-736, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки).

Ген BRD4 (и иногда BRD3) является компонентом хромосомной транслокации, которая приводит к агрессивному подтипу плоскоклеточных карцином, называемых карциномой средней линии NUT. Эти карциномы срединной линии определяются транслокациями t (15; 19), которые дают начало онкогену BRD4-NUT. Полученный слитый белок состоит из BRD4 на N-конце и NUT (ядерный белок яичка) на C-конце. Удаление этого белка из хроматина путем сайленсинга РНК или низкомолекулярных ингибиторов приводит к остановке дифференцировки и роста этих карцином (см. Filippakopoulos, P., et al., Selective Inhibition of BET Bromodomains. *Nature* 2010; 468, 1067-1073. которая полностью включена в данный документ посредством ссылки).

Считается, что белки BET оказывают пролиферативное действие, облегчая транскрипцию онкогенов, таких как c-myc среди прочих. Было показано, что соединения, ингибирующие BRD4, предотвращают связывание BRD4 с хроматином, в том числе на промоторе c-myc, в моделях множественной миеломы. Эта диссоциация приводит к снижению уровня экспрессии c-myc и снижению жизнеспособности клеток (см. Delmore, J.E., et al., «BET Bromodomain Inhibition as a Therapeutic Strategy to Target c-MYC» *Cell* 2011; 146, 904-917, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте). Недавно было обнаружено, что BRD4 связывается с «суперэнхансерами»,

которые представляют собой обширные регуляторные элементы транскрипции в генах, необходимых для судьбы и выживания клеток. Пример можно найти при множественной миеломе, где было обнаружено, что ген *c-myc* имеет область суперэнхансера, связанную с BRD4, что приводит к высоким уровням транскрипции *c-myc* (см. Loven, J., et al., «Selective Inhibition of Tumor Oncogenes by Disruption of Super-Enhancers» Cell 2013; 153, 320-334, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки).

Мутация MPLW515L обнаруживается у небольшого процента пациентов с Филадельфийско-хромосомоотрицательными миелопролиферативными новообразованиями (МПН). Эта мутация вызывает конститутивную активацию JAK2, что приводит к усилению передачи сигналов через его нижестоящие мишени и последующему увеличению уровней клеточной пролиферации. Поскольку между сигнальным путем JAK/STAT и воспалительными путями, транскрипционно регулируемые белками BET, имеется значительное перекрытие, комбинация ингибиторов BET и JAK при МПН может стать основой для нового протокола терапевтического лечения.

Существует потребность в новых методах лечения для улучшения результатов лечения пациентов. Эта заявка направлена на эту потребность и другие.

#### КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ

В данной заявке предложены, в частности, способы лечения миелопролиферативного новообразования у нуждающегося в этом пациента, включающие введение указанному пациенту 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли и руксолитиниба, или его фармацевтически приемлемой соли.

В данной заявке также предложены способы лечения миелопролиферативного новообразования у нуждающегося в этом пациента, включающие введение указанному пациенту 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, и дозу от около 5 мг/сутки до около 60 мг/сутки в пересчете на свободное основание руксолитиниба или его фармацевтически приемлемой соли.

Данная заявка дополнительно обеспечивает применение соединений в указанных в данном документе дозах для применения в производстве лекарственных средств для применения при лечении миелопролиферативного новообразования.

В данной заявке также предложены соединения в указанных в данном документе дозах для применения при лечении миелопролиферативного новообразования.

Подробности одного или нескольких вариантов осуществления изложены в описании ниже. Другие признаки, объекты и преимущества будут очевидны из описания и формулы изобретения.

#### ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

ФИГ. 1А представляет собой график, изображающий эффективность Соединения 1 в модели ксенотрансплантата HEL, объем опухоли ( $\text{мм}^3$ ) в зависимости от дней после инокуляции.

ФИГ. 1В представляет собой график, изображающий переносимость Соединения 1 в модели ксенотрансплантата HEL, изменение массы тела с поправкой на опухоль (%) в зависимости от дней после инокуляции.

ФИГ. 2А представляет собой график, показывающий эффективность комбинации Соединения 1 и руксолитиниба в модели SET-2, объем опухоли ( $\text{мм}^3$ ) в зависимости от дней после инокуляции.

ФИГ. 2В представляет собой график, показывающий переносимость комбинации Соединения 1 и руксолитиниба в модели SET-2, изменение массы тела с поправкой на опухоль (%) в зависимости от дней после инокуляции.

ФИГ. 3А представляет собой график, показывающий эффективность комбинации Соединения 1 и руксолитиниба в модели SET-2, объем опухоли ( $\text{мм}^3$ ) в зависимости от дней после инокуляции.

ФИГ. 3В представляет собой график, показывающий переносимость комбинации Соединения 1 и руксолитиниба в модели SET-2, изменение массы тела с поправкой на опухоль (%) в зависимости от дней после инокуляции.

ФИГ. 4А представляет собой график, показывающий массу селезенки и количество лейкоцитов в качестве показателей эффективности соединения 1 и руксолитиниба в мышинной модели MPL W515L МПН

ФИГ. 4В представляет собой график, показывающий массу селезенки и количество лейкоцитов в качестве показателей эффективности Соединения 1 и руксолитиниба в мышинной модели MPLW515L МПН

ФИГ. 5 представляет собой таблицу (Таблица 3), в которой представлена сводка фармакокинетических параметров Соединения 1 для Соединения 1 в виде монотерапии (часть 1 и 2) в стационарном состоянии (цикл 1, день 8).

ФИГ. 6 представляет собой график, показывающий ингибирование экспрессии белка сМус в фармакодинамическом анализе клеток с добавлением в зависимости от уровней Соединения 1 в плазме.

ФИГ. 7 представляет собой график, показывающий равновесные концентрации Соединения 1 в плазме (среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка) у участников после однократного ежедневного приема Соединения 1 в качестве монотерапии.

ФИГ. 8 представляет собой график, изображающий вероятность ответа (гипергликемия) в зависимости от равновесной AUC Соединения 1 после однократного ежедневного приема Соединения 1 в качестве монотерапии.

#### **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ**

Для терминов *например* и «такие как» и их грамматические эквиваленты, фраза «и без ограничений» понимается как следующая, если явно не указано иное.

Используемые формы единственного числа «a», «an» и «the» включают ссылки во множественном числе, если из контекста явно не следует иное.

Используемый в данном документе термин «приблизительно» означает «около» (*например*, плюс или минус около 10% от указанного значения).

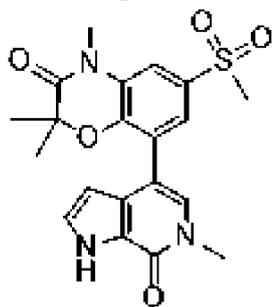
Используемая в данном документе фраза «твердая форма» относится к соединению, представленному в данном документе, либо в аморфном состоянии, либо в кристаллическом состоянии («кристаллическая форма», или «кристаллическое твердое вещество», или «кристаллическая твердая форма»), посредством чего соединение, представленное в данном документе в кристаллическом состоянии может необязательно включать растворитель или воду в пределах кристаллической решетки, например, для образования сольватированной или гидратированной кристаллической формы. Термин «гидратированный», используемый в данном документе, относится к кристаллической форме, которая включает молекулы воды в кристаллической решетке. Примеры «гидратированных» кристаллических форм включают полугидраты, моногидраты, дигидраты и т.п. Другие гидратированные формы, такие как каналные гидраты и т.п., также включены в значение этого термина.

Данное изобретение относится к применению ингибитора JAK1/JAK2, руксолитиниба, в комбинации с ингибитором белка ВЕТ для лечения миелопролиферативного новообразования. Руксолитиниб, (3R)-3-циклопентил-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрил, является ингибитором JAK1 и JAK2. IC<sub>50</sub> руксолитиниба была измерена с помощью Assay A *intra* при 1 мМ АТФ и оказалась менее 10 нМ при JAK1 и JAK2. Руксолитиниб можно получить с помощью процедуры, описанной в патенте США № 7598257 (пример 67), поданном 12 декабря 2006 г., который полностью включен в данный документ посредством ссылки. Руксолитиниба фосфат можно получить, как описано в патенте США № 2008/0312259, который полностью включен в данный документ посредством ссылки.

Было продемонстрировано, что ингибирование ВЕТ ингибирует воспалительную сигнализацию при миелопролиферативных новообразованиях (см. Kleppe M, Koche R, Zou L, et al., «Двойное нацеливание на онкогенную активацию и воспалительную сигнализацию повышает терапевтическую эффективность при миелопролиферативных новообразованиях»). *Cancer Cell* 2018; 33:29-43.e7, полностью включено в данный документ посредством ссылки). В указанном исследовании ингибитор ВЕТ в сочетании с ингибированием JAK снижал продукцию патологических цитокинов и общее бремя болезни. В частности, в модели миелопролиферативного новообразования *in vivo* комбинированное лечение руксолитинибом и JQ1, ингибитором JAK1/2 и ВЕТ соответственно приводило к уменьшению воспаления и уменьшению тяжести заболевания. Лечение также устранило фиброз у мышей с миелофиброзом, ответ, который ранее не наблюдался при терапии ингибитором JAK с одним агентом. Механически предполагается, что синергетические эффекты ингибиторов JAK и ВЕТ опосредованы блокированием 2 главных регуляторов патологической воспалительной сигнализации,

JAK/STAT и NF- $\kappa$ B, соответственно. В совокупности эти данные требуют оценки ингибиторов BET при злокачественных новообразованиях, характеризующихся фоновым воспалением, таких как миелопролиферативные новообразования, включая первичный миелофиброз.

В данной заявке предложен способ лечения миелопролиферативного новообразования у нуждающегося в этом пациента, включающий введение указанному пациенту 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она (Соединение 1 ниже), который является ингибитором белков BET, таких как BRD2, BRD3, BRD4 и BRD-т. Соединение 1 можно получить, как описано в патенте США 9540368 или патенте США 10189832, каждый из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки.



Соединение 1

В данной заявке предложен способ лечения миелопролиферативного новообразования у нуждающегося в этом пациента, включающий введение указанному пациенту 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли и руксолитиниба или его фармацевтически приемлемой соли. Введение комбинации Соединения 1 и руксолитиниба может обеспечить повышенную эффективность. Как показано в приведенных в данном документе примерах, комбинация Соединения 1 и руксолитиниба показала повышенную эффективность в моделях *in vivo* и была значительно ( $p < 0,05$ ) более эффективной, чем только руксолитиниб или только Соединение 1. То есть комбинация руксолитиниба и Соединения 1 обеспечивает лучшую эффективность, чем сумма частей.

В данной заявке предложен способ лечения миелопролиферативного новообразования у нуждающегося в этом пациента, включающий введение указанному пациенту 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли и руксолитиниба или его фармацевтически приемлемой соли.

В данной заявке дополнительно предложен способ лечения миелопролиферативного новообразования у нуждающегося в этом пациента, включающий введение указанному пациенту 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его

фармацевтически приемлемой соли и терапевтически эффективного количества руксолитиниба или его фармацевтически приемлемой соли.

В данной заявке дополнительно предложен способ лечения миелопролиферативного новообразования у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту дозы от около 2 мг/сутки до около 20 мг/сутки в пересчете на свободное основание 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он или его фармацевтически приемлемой соли и терапевтически эффективного количества руксолитиниба или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет от около 2 мг/сутки до около 18 мг/сутки в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет от около 2 мг/сутки до около 12 мг/сутки в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет от около 4 мг/сутки до около 8 мг/сутки в пересчете на свободное основание.

Например, доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 2, около 4, около 6, около 10, около 12, около 14, около 16, около 18 или около 20 мг/сутки в пересчете на свободное основание. В некоторых вариантах осуществления доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 2, около 4, около 6, около 8, около 10, около 12, около 14, около 16, около 18 или около 20 мг/сутки в пересчете на свободное основание. В некоторых вариантах осуществления доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 2, около 4, около 6, около 8, около 10 или около 12 мг/сутки в пересчете на свободное основание. В некоторых вариантах осуществления доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 4, около 6, или около 8 мг на день в пересчете на свободное основание. В некоторых вариантах осуществления доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 8, около 10, около

12, около 14, или около 16 мг на день в пересчете на свободное основание. В некоторых вариантах осуществления доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 10, около 12, около 14, около 16 или около 18 мг на день в пересчете на свободное основание. В некоторых вариантах осуществления доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 2 мг на день в пересчете на свободное основание. В некоторых вариантах осуществления доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 4 мг на день в пересчете на свободное основание. В некоторых вариантах осуществления доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 6 мг на день в пересчете на свободное основание. В некоторых вариантах осуществления доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 8 мг на день в пересчете на свободное основание. В некоторых вариантах осуществления доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 10 мг на день в пересчете на свободное основание. В некоторых вариантах осуществления доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 12 мг на день в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он или его фармацевтически приемлемую соль и руксолитиниб или его фармацевтически приемлемую соль вводят один раз в день (QD). В некоторых вариантах осуществления 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он или его фармацевтически приемлемую соль и руксолитиниб или его фармацевтически приемлемую соль вводят два раза в день (BID).

В некоторых вариантах осуществления доза руксолитиниба или его фармацевтически приемлемой соли составляет от около 5 мг/сутки до около 60 мг/сутки в пересчете на свободное основание. Например, доза руксолитиниба или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 5, около 10, около 15, около 20, около 25, около 30, около 35, около 40, около 45, около 50, около 55 или 60 мг/сутки в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления доза руксолитиниба или его фармацевтически приемлемой соли составляет от около 2,5 мг два раза в день до около 30 мг два раза в день в пересчете на свободное основание. Например, доза руксолитиниба или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 2,5, около 5, около 7,5, около 10, около 12,5, около 15, около 17,5, около 20, около 25 или около 30 мг два раза в день в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль руксолитиниба представляет собой фосфат руксолитиниба.

В некоторых вариантах осуществления 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он или его фармацевтически приемлемая соль выбраны из соли фосфорной кислоты, соли дихлористоводородной кислоты, соли хлористоводородной кислоты, соли малеиновой кислоты, соли адипиновой кислоты, соли бромистоводородной кислоты, соли (R)-(-)-миндальной кислоты, соли салициловой кислоты, соль и бензойной кислоты, соли бензолсульфоновой кислоты, соли L-пироглутаминовой кислоты, соли метансульфоновой кислоты, соли (1S)-(+)-10-камфорсульфоновой кислоты, соли фумаровой кислоты, соли серной кислоты, соли L-винной кислоты и соль D-винной кислоты 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она. В некоторых вариантах осуществления 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он представляет собой свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он включает одну или несколько кристаллических твердых форм ингибитора белка ВЕТ. Более подробное обсуждение кристаллических форм Соединения 1 можно найти в патенте США № 10626114, который полностью включен в данный документ посредством ссылки и кратко описан в данном документе. Как правило, разные кристаллические формы одного и того же вещества имеют разные объемные свойства, касающиеся, например, гигроскопичности, растворимости, стабильности и т.п.

Кристаллические твердые формы Соединения 1 могут включать растворитель, такой как вода (например, гидратированная форма), или практически не содержать воду и растворитель (например, образуя ангидрат). В некоторых вариантах осуществления кристаллическая твердая форма представляет собой ангидрид. В дополнительных вариантах осуществления кристаллическая твердая форма является гидратированной. Соединение 1 может быть получено в твердой кристаллической форме, обозначаемой как Форма I, Форма II, Форма III, Форма IV, Форма V, Форма Va, Форма VI, Форма VII, Форма VIII, Форма IX, Форма X, Форма XI, Форма XII, Форма XIII, Форма XIV и Форма X, которые описаны в патенте США № 10626114, который полностью включен в данный документ посредством ссылки.

Экспериментальные данные показывают, что Форма I является безводной. Форма I характеризуется своей картиной XRPD и другими характеристиками твердого состояния. В некоторых вариантах осуществления Форма I имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 8,7, около 9,8, около 12,7, около 21,4 и около 23,3 градуса.

Экспериментальные данные показывают, что форма II является безводной. Форма II характеризуется своей картиной XRPD и другими характеристиками твердого состояния. В некоторых вариантах осуществления Форма II имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 6,7, около 9,5, около 10,5, около 14,8, около 16,2, около 17,0, около 18,8 и около 19,3 градуса.

В некоторых вариантах осуществления Форма III имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 7,8, около 12,4, около 13,1, около 15,2, около 15,5, около 16,9, около 17,5 и около 20,3 градуса.

В некоторых вариантах осуществления Форма IV имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 11,2, около 16,3, около 18,7 и около 22,1 градуса.

В некоторых вариантах осуществления форма V имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 8,2, около 8,5, около 14,1, около 16,3, около 17,1, около 18,9, около 19,8, около 21,8 и около 22,7. градуса.

В некоторых вариантах осуществления Форма Va имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 8,7, около 16,5, около 17,3, около 19,9 и около 21,6 градуса.

В некоторых вариантах осуществления Форма VI имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 8,5, около 9,6, около 11,4, около 12,1, около 13,5, около 14,5, около 15,2, около 17,1, около 17,7, около 18,1, около 19,2 и около 20,7 градуса.

В некоторых вариантах осуществления Форма VII имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 9,9, около 12,2, около 14,8, около 15,7, около 17,0, около 17,5 и около 18,8 градуса.

В некоторых вариантах осуществления Форма VIII имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 8,1, около 8,5, около 16,2, около 16,6, около 17,0, около 17,5, около 18,0, около 18,9, около 19,6, и около 20,1 градуса.

В некоторых вариантах осуществления Форма IX имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 8,6, около 9,1, около 11,4, около 13,4, около 15,2, около 18,2, около 22,1, около 22,8 и около 23,9. градуса.

В некоторых вариантах осуществления Форма X имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 14,9, около 15,3, около 15,8, около 17,0, около 17,7, около 18,3 и около 19,7 градуса.

В некоторых вариантах осуществления Форма XI имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 8,9, около 12,8, около 18,0, около 21,5, около 22,6 и около 23,3 градуса.

В некоторых вариантах осуществления Форма XII имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 5,6, около 11,7, около 13,8, около 14,5, около 16,9, около 17,7, около 18,7, около 23,5, около 24,6, около 34,3, около 44,2 и 44,6 градуса.

В некоторых вариантах осуществления Форма XIII имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 5,7, около 8,6, около 9,8, около 11,8, около 12,6, около 13,4, около 14,1, около 14,8, около 16,6, и около 19,1 градуса.

В некоторых вариантах осуществления Форма XIV имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 4,0, около 11,2, около 11,9, около 14,1, около 14,8 и около 15,9 градуса.

В некоторых вариантах осуществления Форма XV имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в выражении 2-тета, выбранных из около 7,4, около 9,6, около 12,4, около 13,4, около 15,5, около 16,9, около 17,7, около 19,0, около 19,5, около 20,6 и около 22,5 градуса.

В данной заявке предложен способ лечения миелопролиферативного новообразования у нуждающегося в этом пациента, включающий введение указанному пациенту 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-она или его фармацевтически приемлемой соли и терапевтически эффективного количества руксолитиниба или его фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления миелопролиферативное новообразование выбрано из истинной полицитемии (ИП), эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ), первичного миелофиброза, хронического миелогенного лейкоза (ХМЛ), хронического миеломоноцитарного лейкоза (ХММЛ), гиперэозинофильного синдрома (ГЭС), системного заболевания тучных клеток (СЗТК), хронического нейтрофильного лейкоза (ХНЛ) и хронического эозинофильного лейкоза.

В некоторых вариантах осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой истинную полицитемию (ИП).

В некоторых вариантах осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой эссенциальную тромбоцитемию (ЭТ).

В некоторых вариантах осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой первичный миелофиброз.

В некоторых вариантах осуществления миелопролиферативное новообразование представляет собой миелофиброз.

В некоторых вариантах осуществления руксолитиниб или его фармацевтически приемлемую соль и 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он или его

фармацевтически приемлемую соль вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления руксолитиниб или его фармацевтически приемлемую соль вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-он или его фармацевтически приемлемую соль вводят перорально.

В некоторых вариантах осуществления руксолитиниб или его фармацевтически приемлемую соль и 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-он или его фармацевтически приемлемую соль вводят одновременно или последовательно.

Преыдушие варианты осуществления предназначены для объединения в любую подходящую комбинацию, как если бы варианты осуществления представляли собой несколько независимых пунктов формулы изобретения (например, варианты осуществления, относящиеся к индивидуальным дозам руксолитиниба, варианты осуществления, относящиеся к индивидуальным дозам ингибитора белка ВЕТ (Соединение 1), варианты осуществления, относящиеся к солевым формам, варианты осуществления, относящиеся к отдельным типам миелопролиферативных новообразований, и варианты осуществления, относящиеся к пероральному введению, могут быть объединены в любую комбинацию). Комбинации отдельно не перечислены в данном документе просто ради краткости.

Все соединения и их фармацевтически приемлемые соли можно найти вместе с другими веществами, такими как вода и растворители (*например*, гидраты и сольваты), или их можно выделить. В твердом состоянии описанные в данном документе соединения и их соли могут находиться в различных формах и могут, *например*, принимать форму сольватов, включая гидраты. Соединения могут находиться в любой твердой форме, такой как полиморф или сольват, поэтому, если четко не указано иное, ссылку в описании на соединения и их соли следует понимать как включающую любую твердую форму соединения.

Фраза «фармацевтически приемлемый» используется в данном документе для обозначения тех соединений, материалов, композиций и/или дозированных форм, которые, в рамках здравого медицинского суждения, подходят для использования в контакте с тканями человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, соответствующих разумному соотношению польза/риск.

Данное изобретение также включает фармацевтически приемлемые соли описанных в данном документе соединений. Термин «фармацевтически приемлемые соли» относится к производным раскрытых соединений, в которых исходное соединение модифицировано путем превращения существующей кислотной или основной части в форму соли. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваются ими, соли минеральных или органических кислот основных остатков, таких как амины; щелочные или органические соли кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты; и тому подобное. Фармацевтически приемлемые соли по данному

изобретению включают нетоксичные соли исходного соединения, образованные, *например*, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Фармацевтически приемлемые соли по данному изобретению могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основную или кислотную часть, обычными химическими способами. Как правило, такие соли могут быть получены реакцией форм свободной кислоты или основания этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе, или в их смеси; как правило, предпочтительны неводные среды, такие как эфир, этилацетат, спирты (*например*, метанол, этанол, изопропанол или бутанол) или ацетонитрил (MeCN). Списки подходящих солей можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17<sup>th</sup> Ed., (Mack Publishing Company, Easton, 1985), p. 1418, Berge et al., J. Pharm. Sci., **1977**, 66(1), 1-19, and in Stahl et al., Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, (Wiley, 2002). В некоторых вариантах осуществления соединения, описанные в настоящем документе, включают формы N-оксида.

Дозировки, описанные в данном документе, даны в пересчете на свободное основание. Фраза «в пересчете на свободное основание» указывает на то, что количество соединения (*например*, руксолитиниба или его соли) в лекарственной форме измеряется только на основе молекулярной массы соединения в виде свободного основания, даже если фактическим активным ингредиентом является соль соединения, имеющая молекулярную массу, отличную от массы свободного основания. *Например*, коэффициент пересчета фосфатной соли руксолитиниба в свободное основание составляет 0,7575.

Термины «индивидуум» или «пациент», используемые взаимозаменяемо, относятся к любому животному, включая млекопитающих, предпочтительно к мышам, крысам, другим грызунам, кроликам, собакам, кошкам, свиньям, крупному рогатому скоту, овцам, лошадям или приматам, и наиболее предпочтительно к людям.

Фраза «терапевтически эффективное количество» относится к количеству активного соединения или фармацевтического агента, которое вызывает биологический или лекарственный ответ в ткани, системе, животном, индивидууме или человеке, который ищет исследователь, ветеринар, врач или другой клиницист.

Термин «лечение» или «терапия» относится к одному или нескольким из (1) ингибированию заболевания; *например*, ингибирование заболевания, состояния или расстройства у индивидуума, который испытывает или проявляет патологию или симптоматику заболевания, состояния или расстройства (*т.е.*, остановку дальнейшего развития патологии и/или симптоматики); и (2) облегчение заболевания; *например*, облегчение заболевания, состояния или расстройства у индивидуума, который испытывает или проявляет патологию или симптоматику заболевания, состояния или расстройства (*т.е.*, реверсирование патологии и/или симптоматики), такое как уменьшение тяжести заболевания. В одном варианте лечение или терапия включает профилактику или снижение риска развития заболевания; *например*, предотвращение или снижение риска развития заболевания, состояния или нарушения у индивидуума, который может быть

предрасположен к заболеванию, состоянию или нарушению, но еще не испытывает или не проявляет патологию или симптоматику заболевания.

Термин «BID» означает два раза в день.

Термин «QD» означает один раз в день.

#### *Дополнительные комбинации*

Соединение 1 можно использовать в дополнительных комбинированных лечениях, где Соединение 1 вводят в сочетании с другими видами лечения, такими как введение одного или нескольких дополнительных терапевтических агентов. Дополнительными терапевтическими агентами обычно являются те, которые обычно используются для лечения конкретного состояния, подлежащего лечению. Дополнительные терапевтические средства могут включать, *например*, химиотерапевтические средства, противовоспалительные средства, стероиды, иммунодепрессанты, а также ингибиторы киназы Vcr-Abl, Flt-3, RAF, FAK и JAK для лечения заболеваний, нарушений или состояний, связанных с белком Bcr-Abl. Одно или несколько дополнительных фармацевтических средств можно вводить пациенту одновременно или последовательно.

В некоторых вариантах осуществления Соединение 1 можно использовать в комбинации с терапевтическим средством, нацеленным на эпигенетический регулятор. Примеры эпигенетических регуляторов включают гистон-лизин-метилтрансферазы, гистон-аргинин-метилтрансферазы, гистон-деметилазы, гистон-деацетилазы, гистон-ацетилазы и ДНК-метилтрансферазы. Ингибиторы гистондеацетилазы включают, *например*, вориностат.

Для лечения рака и других пролиферативных заболеваний Соединение 1 можно использовать в комбинации с химиотерапевтическими агентами или другими антипролиферативными агентами. Соединение 1 также можно использовать в сочетании с медикаментозной терапией, такой как хирургия или лучевая терапия, *например*, гамма-облучение, нейтронно-лучевая терапия, электронно-лучевая терапия, протонная терапия, брахитерапия и системные радиоактивные изотопы. Примеры подходящих химиотерапевтических средств включают любое из: абареликс, альдеслейкин, алемтузумаб, алитретиноин, аллопуринол, альтретамин, анастрозол, триоксид мышьяка, аспарагиназу, азациитидин, бевацизумаб, бексаротен, блеомицин, бортезомби, бортезомиб, бусульфид внутривенно, бусульфид перорально, калустерон, капецитабин, карбоплатин, кармустин, цетуксимаб, хлорамбуцил, цисплатин, кладрибин, клофарабин, циклофосфамид, цитарабин, дакарбазин, дактиномицин, дальтепарин натрия, дазатиниб, даунорубин, децитабин, денилейкин, денилейкин дифтитокс, дексразоксан, доцетаксел, доксорубин, дромостанолон пропионат, экулизумаб, эпирубин, эрлотиниб, эстрамустин, этопозид фосфат, этопозид, экземестан, фентанилцитрат, филграстин, флосуридин, флударабин, фторурацил, фулвестрант, гифитиниб, гемцитабин, гемтузумаб, озогамин, гозерелин ацетат, гистрелин ацетат, ибритумомаб тиуксетан, идарубин, ифосфамид, иматиниб мезилат, интерферон альфа 2а, иринотекан, лапатиниб дитозилат, леналидомид, летрозол, лейковорин, лейпролид ацетат, левамизол, ломустин,

меклоретамин, мегестрола ацетат, мелфалан, меркаптопурин, метотрексат, метоксален, митомицин С, митотан, митоксантрон, нандролон фенпропионат, неларабин, нофетумомаб, оксалиплатин, паклитаксел, памидронат, панитумумаб, пегаспаргаза, пегфилграстим, динатрий пеметрексед, пентостатин, пипоброман, пликамицин, прокарбазин, хинакрин, расбуриказа, ритуксимаб, руксолитиниб, сорафениб, стрептозоцин, сунитиниб, сунитиниб малеат, тамоксифен, темозоломид, тенипозид, тестолактон, талидомид, тиогуанин, тиотепа, топотекан, торемифен, тозитумомаб, трастузумаб, третиноин, урацил мустард, валрубицин, винбластин, винкристин, винорелбин, вориностат и золедронат.

Для лечения рака и других пролиферативных заболеваний Соединение 1 можно использовать в комбинации с руксолитинибом.

Соединение 1 можно использовать в комбинации с одним или несколькими ингибиторами контрольных точек иммунного ответа. Примеры ингибиторов иммунных контрольных точек включают ингибиторы молекул иммунных контрольных точек, таких как CD27, CD28, CD40, CD122, CD96, CD73, CD47, OX40, GITR, CSF1R, JAK, PI3K дельта, PI3K гамма, TAM, аргиназа, CD137 (также известная как 4-1BB), ICOS, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, LAG3, TIM3, VISTA, PD-1, PD-L1 и PD-L2. В некоторых вариантах осуществления молекула иммунной контрольной точки представляет собой стимулирующую молекулу контрольной точки, выбранную из CD27, CD28, CD40, ICOS, OX40, GITR и CD137. В некоторых вариантах осуществления молекула иммунной контрольной точки представляет собой молекулу ингибиторной контрольной точки, выбранную из A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, PD-1, TIM3 и VISTA. В некоторых вариантах осуществления соединения, представленные в данном документе, можно использовать в комбинации с одним или несколькими агентами, выбранными из ингибиторов KIR, ингибиторов TIGIT, ингибиторов LAIR1, ингибиторов CD160, ингибиторов 2B4 и бета-ингибиторов TGFR.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой антитело к PD1, антитело к PD-L1 или антитело к CTLA-4.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор PD-1, например, моноклональное антитело к PD-1. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб, пембролизумаб (также известный как MK-3475), пидилизумаб, SHR-1210, PDR001 или AMP-224. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб или пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к PD1 представляет собой пембролизумаб

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор PD-L1, например, моноклональное антитело к PD-L1. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело к PD-L1 представляет собой BMS-935559, MEDI4736, MPDL3280A (также известное как

RG7446) или MSB0010718C. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело к PD-L1 представляет собой MPDL3280A или MEDI4736.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор CTLA-4, например, антитело к CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления антитело к CTLA-4 представляет собой ипилимумаб.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор LAG3, например, антитело к LAG3. В некоторых вариантах осуществления антитело к LAG3 представляет собой BMS-986016 или LAG525.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор GITR, например, антитело к GITR. В некоторых вариантах осуществления антитело к GITR представляет собой TRX518 или МК-4166.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор OX40, например, антитело к OX40 или слитый белок OX40L. В некоторых вариантах осуществления антитело к OX40 представляет собой MEDI0562. В некоторых вариантах осуществления слитый белок OX40L представляет собой MEDI6383.

Соединение 1 можно использовать в комбинации с одним или несколькими агентами для лечения таких заболеваний, как рак. В некоторых вариантах осуществления агент представляет собой алкилирующий агент, ингибитор протеасом, кортикостероид или иммуномодулирующий агент. Примеры алкилирующего агента включают циклофосфамид (CY), мелфалан (MEL) и бендамустин. В некоторых вариантах осуществления ингибитор протеасомы представляет собой карфилзомиб. В некоторых вариантах осуществления кортикостероид представляет собой дексаметазон (DEX). В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой леналидомид (LEN) или помалидомид (POM).

Для лечения аутоиммунных или воспалительных состояний Соединение 1 можно вводить в комбинации с кортикостероидом, таким как триамцинолон, дексаметазон, флуоцинолон, кортизон, преднизолон или флуметолон.

Для лечения аутоиммунных или воспалительных состояний Соединение 1 можно вводить в комбинации с иммунодепрессантом, таким как флуоцинолона ацетонид (Retisert®), римексолон (AL-2178, Vexol, Alcon) или циклоспорин (Restasis®).

Для лечения аутоиммунных или воспалительных состояний Соединение 1 можно вводить в комбинации с одним или несколькими дополнительными агентами, выбранными из Dehydrex™ (Holles Labs), Цивамида (Opko), гиалуроната натрия (Vismed, Lantibio/TRB Chemedica), циклоспорина (ST-603), Sirion Therapeutics), ARG101(T) (тестостерон, Argentis), AGR1012(P) (Argentis), экабет натрия (Senju-Ista), гефарнат (Santen), 15-(s)-гидроксиэйкозатетраеновая кислота (15(S)- HETE), цевиламин,

доксциклин (ALTY-0501, Alacrity), миноциклин, iDestrin™ (NP50301, Nascent Pharmaceuticals), циклоспорин А (Nova22007, Novagali), окситетрациклин (Duramycin, MOLI1901, Lantibio), CF101 (2S, 3S, 4R, 5R)-3,4-дигидрокси-5-[6-[(3-йодофенил)метиламино]пурин-9-ил]-N-метилоксолан-2-карбамил, Can-Fite Biopharma), воклоспорин (LX212 или LX214, Lux Biosciences), ARG103 (Agentis), RX-10045 (синтетический аналог резолвина, Resolvux), DYN15 (Dyanmis Therapeutics), ривоглитазон (DE011, Daiichi Sanko), ТВ4 (RegeneRx), ОPH-01 (Ophtalmis Monaco), PCS101 (Pericor Science), REV1-31 (Evolutec), лакритин (Senju), ребамипид (Otsuka-Novartis), ОТ-551 (Othera), PAI-2 (Университет Пенсильвании и Университет Темпл), пилокарпин, такролимус, пимекролимус (AMS981, Novartis), лотепреднола этабонат, ритуксимаб, диквафозол тетра натрия (INS365, Inspire), KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals), дегидроэпиандростерон, анакинра, эфализумаб, микофенолат натрия, этанерцепт (Embrel®), гидроксихлорохин, NGX267 (TorreyPines Therapeutics) или талидомид.

В некоторых вариантах осуществления Соединение 1 можно вводить в комбинации с одним или несколькими агентами, выбранными из антибиотика, противовирусного, противогрибкового, анестезирующего, противовоспалительного агента, включая стероидные и нестероидные противовоспалительные средства, и противоаллергического агента. Примеры подходящих лекарственных средств включают аминогликозиды, такие как амикацин, гентамицин, тобрамицин, стрептомицин, нетилмицин и канамицин; фторхинолоны, такие как ципрофлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин, тросвафлоксацин, ломефлоксацин, левофлоксацин и эноксацин; нафтиридин; сульфонамиды; полимиксин; хлорамфеникол; неомицин; парамомицин; колистиметат; бацитрацин; ванкомицин; тетрациклины; рифампин и его производные ("рифампины"); циклосерин; бета-лактамы; цефалоспорины; амфотерицины; флуконазол; флуцитозин; натамицин; миконазол; кетоконазол; кортикостероиды; диклофенак; флурбипрофен; кеторолак; супрофен; кромолин; лодоксамид; левокабастин; нафазолин; антазолин; фенирамин; или азалидный антибиотик.

Другие примеры агентов, с одним или несколькими из которых также можно комбинировать предложенное соединение, включают: средства для лечения болезни Альцгеймера, такие как донепезил и ривастигмин; средства для лечения болезни Паркинсона, такие как L-ДОФА/карбидопа, энтакапон, ропинирол, прамипексол, бромокриптин, перголид, тригексифенидил и амантадин; средство для лечения рассеянного склероза (РС), такое как бета-интерферон (*например*, Авонекс® и Ребиф®), глатирамера ацетат и митоксантрон; средства для лечения астмы, такие как альбутерол и монтелукаст; средство для лечения шизофрении, такое как zipрекса, риспердал, сероквель и галоперидол; противовоспалительный агент, такой как кортикостероид, такой как дексаметазон или преднизон, блокатор TNF, IL-1 RA, азатиоприн, циклофосфамид и сульфасалазин; иммуномодулирующее средство, включая иммунодепрессанты, такие как циклоспорин, такролимус, рапамицин, микофенолата мофетил, интерферон, кортикостероид, циклофосфамид, азатиоприн и сульфасалазин; нейротрофический

фактор, такой как ингибитор ацетилхолинэстеразы, ингибитор МАО, интерферон, противосудорожное средство, блокатор ионных каналов, рилузол или средство против болезни Паркинсона; агент для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, такой как бета-блокатор, ингибитор АПФ, диуретик, нитрат, блокатор кальциевых каналов или статин; агент для лечения заболевания печени, такой как кортикостероид, холестирамин, интерферон и противовирусный агент; агент для лечения заболеваний крови, такой как кортикостероид, противолейкозный агент или фактор роста; или средство для лечения иммунодефицитных состояний, такое как гамма-глобулин.

В некоторых вариантах осуществления Соединение 1 вводят в комбинации с ингибитором киназы JAK (например, руксолитинибом, тофацитинибом, барицитинибом, СУТ387, GLPG0634, лестауртинибом, пакритинибом, TG101348 или селективным ингибитором JAK1), ингибитором киназы Pim (включая ингибиторы одной или нескольких из PIM1, PIM2 и PIM3), ингибитором киназы PI3, включая селективные ингибиторы PI3K-дельта и ингибиторы PI3K широкого спектра действия, ингибитором MEK, ингибитором циклинзависимой киназы, ингибитором b-RAF, ингибитором mTOR, ингибитором протеасом (например, бортезомиб, карфилзомиб), ингибитором HDAC (например, панобиностат, вориностат), ингибитором ДНК-метилтрансферазы, дексаметазон, мелфалан или иммуномодулятором (например, ленолидомид, помалидомид).

Когда пациенту вводят более одного фармацевтического агента, их можно вводить одновременно, последовательно или в комбинации (*например*, более двух агентов).

#### *Композиции*

Соединения можно вводить в виде фармацевтических композиций. Эти композиции можно приготовить способами, хорошо известными в области фармацевтики, и их можно вводить различными путями, в зависимости от того, показано ли местное или системное лечение, и от области, подлежащей лечению. Введение может быть местным (в том числе чрескожным, эпидермальным, офтальмологическим и на слизистые оболочки, включая интраназальное, вагинальное и ректальное введение), легочным (*например*, путем ингаляции или вдвух порошков или аэрозолей, в том числе с помощью небулайзера; интратрахеально или интраназально), перорально или парентерально. Парентеральное введение включает внутривенное, внутриартериальное, подкожное, внутрибрюшинное, внутримышечное введение или инъекцию или инфузию; или внутрочерепное, *например*, интратекальное или интравентрикулярное введение. Парентеральное введение может осуществляться в виде однократной болюсной дозы или может осуществляться, *например*, с помощью перфузионного насоса непрерывного действия. Фармацевтические композиции и составы для местного применения могут включать трансдермальные пластыри, мази, лосьоны, кремы, гели, капли, суппозитории, спреи, жидкости и порошки. Могут быть необходимы или желательны обычные фармацевтические носители, водные, порошкообразные или масляные основы, загустители и т.п.

Фармацевтические композиции могут содержать в качестве активного ингредиента соединения или их фармацевтически приемлемые соли в сочетании с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями (вспомогательными веществами). В некоторых вариантах осуществления композиция подходит для местного применения. При изготовлении композиций активный ингредиент обычно смешивают с наполнителем, разбавляют наполнителем или заключают в такой носитель в форме, *например*, капсулы, саше, бумаги или другого контейнера. Когда вспомогательное вещество служит разбавителем, оно может быть твердым, полутвердым или жидким веществом, которое действует как несущая среда, носитель или среда для активного ингредиента. Так, композиции могут быть в форме таблеток, пилюль, порошков, пастилок, саше, облаток, эликсиров, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (в виде твердой или жидкой среды), мазей, содержащих, *например*, до 10% от массы действующего вещества, мягких и твердых желатиновых капсул, суппозиториев, стерильных растворов для инъекций и стерильных расфасованных порошков.

При приготовлении состава активное соединение можно измельчить для получения частиц соответствующего размера перед объединением с другими ингредиентами. Если активное соединение по существу нерастворимо, его можно измельчить до размера частиц менее 200 меш. Если активное соединение в значительной степени растворимо в воде, размер частиц можно отрегулировать путем измельчения, чтобы обеспечить в основном однородное распределение в препарате, *например*, около 40 меш.

Соединения могут быть измельчены с использованием известных способов измельчения, таких как мокрое измельчение, для получения размера частиц, подходящего для получения таблеток и других типов составов. Тонкодисперсные (нанодисперсные) препараты соединений по изобретению могут быть получены способами, известными в данной области техники, см., *например*, WO 2002/000196.

Некоторые примеры подходящих эксципиентов включают лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, гуммиарабик, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, сироп и метилцеллюлозу. Составы могут дополнительно включать: смазывающие агенты, такие как тальк, стеарат магния и минеральное масло; смачивающие агенты; эмульгаторы и суспендирующие агенты; консерванты, такие как метил- и пропилгидроксibenзоаты; и подсластители и ароматизаторы. Композиции по изобретению могут быть составлены таким образом, чтобы обеспечить быстрое, замедленное или отсроченное высвобождение активного ингредиента после введения пациенту с использованием процедур, известных в данной области.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит силикатированную микрокристаллическую целлюлозу (SMCC) и по меньшей мере одно соединение, описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления силикатированная микрокристаллическая

целлюлоза содержит около 98% микрокристаллической целлюлозы и около 2% диоксида кремния по массе.

В некоторых вариантах осуществления композиция представляет собой композицию с замедленным высвобождением, содержащую по меньшей мере одно описанное в данном документе соединение или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит по меньшей мере одно описанное в данном документе соединение или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере один компонент, выбранный из микрокристаллической целлюлозы, моногидрата лактозы, гидроксипропилметилцеллюлозы и полиэтиленоксида. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит по меньшей мере одно описанное в данном документе соединение или его фармацевтически приемлемую соль, а также микрокристаллическую целлюлозу, моногидрат лактозы и гидроксипропилметилцеллюлозу. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит по меньшей мере одно описанное в данном документе соединение или его фармацевтически приемлемую соль, а также микрокристаллическую целлюлозу, моногидрат лактозы и полиэтиленоксид. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит стеарат магния или диоксид кремния. В некоторых вариантах осуществления микрокристаллическая целлюлоза представляет собой Avicel PH102™. В некоторых вариантах осуществления моногидрат лактозы представляет собой Fast-flo 316™. В некоторых вариантах осуществления гидроксипропилметилцеллюлоза представляет собой гидроксипропилметилцеллюлозу 2208 K4M (*например*, Methocel K4 M Premier™) и/или гидроксипропилметилцеллюлозу 2208 K100LV (*например*, Methocel K00LV™). В некоторых вариантах полиэтиленоксид представляет собой полиэтиленоксид WSR 1105 (*например*, Polyox WSR 1105™).

Компоненты, используемые для составления фармацевтических композиций, имеют высокую чистоту и по существу не содержат потенциально вредных примесей (*например*, по крайней мере, национальной пищевой степени чистоты, как правило, по крайней мере, аналитической степени чистоты и, чаще, по крайней мере, фармацевтической степени чистоты). В частности, для потребления человеком композиция предпочтительно изготавливается или формулируется в соответствии со стандартами надлежащей производственной практики, как определено в применимых правилах Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США. Например, подходящие составы могут быть стерильными и/или по существу изотоническими и/или полностью соответствовать всем правилам надлежащей производственной практики Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США.

Активное соединение может быть эффективным в широком диапазоне доз и обычно вводится в терапевтически эффективном количестве. Однако следует понимать, что количество фактически вводимого соединения обычно определяется врачом в

соответствии с соответствующими обстоятельствами, включая состояние, подлежащее лечению, выбранный путь введения, фактическое вводимое соединение, возраст, вес и реакция отдельного пациента, тяжесть симптомов у пациента и т.п.

Терапевтическая доза соединения по данному изобретению может варьироваться в зависимости, *например*, от конкретного применения, для которого проводится лечение, способа введения соединения, состояния здоровья и состояния пациента и решения лечащего врача. Доля или концентрация соединения по изобретению в фармацевтической композиции может варьироваться в зависимости от ряда факторов, включая дозировку, химические характеристики (*например*, гидрофобность) и способа введения.

Для приготовления твердых композиций, таких как таблетки, основной активный ингредиент смешивают с фармацевтическим эксципиентом с образованием твердого предварительного состава, содержащего гомогенную смесь соединения по данному изобретению. Когда речь идет об этих предварительных составах как об гомогенных, активный ингредиент обычно равномерно распределен по всей композиции, так что композицию можно легко разделить на одинаково эффективные стандартные лекарственные формы, такие как таблетки, пилюли и капсулы. Этот твердый предварительный состав затем подразделяют на стандартные лекарственные формы описанного выше типа, содержащие, *например*, от около 0,1 до около 1000 мг активного ингредиента по данному изобретению.

Таблетки или пилюли по настоящему изобретению могут быть покрыты оболочкой или иным образом скомпонованы для получения лекарственной формы, обладающей преимуществом пролонгированного действия. Например, таблетка или пилюля могут содержать внутреннюю дозу и внешнюю дозу, при этом последняя имеет форму оболочки поверх первой. Два компонента могут быть разделены энтеросолюбильным слоем, который служит для предотвращения распада в желудке и позволяет внутреннему компоненту пройти неповрежденным в двенадцатиперстную кишку или высвободиться с задержкой. Для таких энтеросолюбильных слоев или покрытий можно использовать различные материалы, такие материалы, как ряд полимерных кислот и смесей полимерных кислот с такими материалами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

Жидкие формы, в которые соединения и композиции по данному изобретению могут быть введены для перорального или инъекционного введения, включают водные растворы, подходящие ароматизированные сиропы, водные или масляные суспензии и ароматизированные эмульсии с пищевыми маслами, такими как хлопковое масло, кунжутное масло, кокосовое масло, масло или арахисовое масло, а также эликсиры и аналогичные фармацевтические несущие среды.

Композиции для ингаляции или инсуффляции включают растворы и суспензии в фармацевтически приемлемых водных или органических растворителях или их смеси, а также порошки. Жидкие или твердые композиции могут содержать подходящие

фармацевтически приемлемые эксципиенты, как описано *выше*. В некоторых вариантах осуществления композиции вводят пероральным или назальным путем для местного или системного действия. Композиции можно распылять с использованием инертных газов. Распыляемые растворы можно вдыхать непосредственно из распылителя или распылитель можно прикрепить к лицевой маске, палатке или дыхательному аппарату прерывистого действия с положительным давлением. Растворы, суспензии или порошковые композиции можно вводить перорально или назально из устройств, которые доставляют состав соответствующим образом.

Составы для местного применения могут содержать один или несколько обычных носителей. В некоторых вариантах осуществления мази могут содержать воду и один или несколько гидрофобных носителей, выбранных из, *например*, жидкого парафина, алкилового эфира полиоксиэтилена, пропиленгликоля, белого Vaseline<sup>®</sup> (вазелин) и т.п. Носители композиций кремов могут быть основаны на воде в сочетании с глицерином и одним или несколькими другими компонентами, *например*, моностеаратом глицерина, моностеаратом ПЭГ-глицерина и цетилстеариловым спиртом. Гели могут быть составлены с использованием изопропилового спирта и воды, подходящим образом в сочетании с другими компонентами, такими как, *например*, глицерин, гидроксипропилцеллюлоза и т.п.

Количество соединения или композиции, вводимой пациенту, будет варьироваться в зависимости от того, что вводится, цели введения, такой как профилактика или терапия, состояния пациента, способа введения и т.п. В терапевтических целях композиции можно вводить пациенту, уже страдающему заболеванием, в количестве, достаточном для излечения или, по меньшей мере, частичного купирования симптомов заболевания и его осложнений. Эффективные дозы будут зависеть от заболевания, которое лечат, а также от мнения лечащего врача в зависимости от таких факторов, как тяжесть заболевания, возраст, вес и общее состояние пациента и т.п.

Композиции, вводимые пациенту, могут быть в форме фармацевтических композиций, описанных выше. Эти композиции могут быть стерилизованы обычными методами стерилизации или могут быть подвергнуты стерилизующей фильтрации. Водные растворы могут быть упакованы для использования в чистом виде или лиофилизированы, при этом лиофилизированный препарат перед введением смешивают со стерильным водным носителем. рН составных препаратов обычно составляет от 3 до 11, более предпочтительно от 5 до 9 и наиболее предпочтительно от 7 до 8. Следует понимать, что использование некоторых из вышеперечисленных наполнителей, носителей или стабилизаторов приведет к образованию фармацевтических солей.

#### *Наборы (комплекты)*

Данная заявка также включает полезные фармацевтические наборы, которые включают один или более контейнеров, содержащих фармацевтическую композицию, включающий в себя терапевтически эффективное количество соединения, или любое из его воплощений. Такие наборы могут дополнительно включать один или несколько

различных обычных компонентов фармацевтических наборов, таких как, *например*, контейнеры с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями, дополнительные контейнеры и *т. д.*, как будет очевидно специалистам в данной области. Инструкции в виде вкладышей или этикеток с указанием количества вводимых компонентов, рекомендации по применению и/или рекомендации по смешиванию компонентов также могут быть включены в набор.

Изобретение будет описано более подробно посредством конкретных примеров. Следующие примеры предложены для иллюстративных целей и никоим образом не предназначены для ограничения изобретения. Специалистам в данной области техники будет легко распознать множество некритических параметров, которые можно изменить или модифицировать для получения по существу тех же результатов. Было обнаружено, что соединения Примеров являются ингибиторами протеинкиназы ВЕТ в соответствии по крайней мере с одним описанным в данном документе анализом.

## **ПРИМЕРЫ**

### **Пример 1: Характеристика Соединения 1 в моделях ксенотрансплантатов JAK2V617F-MPN/AML**

#### *Соединение и составы:*

Соединение 1 использовалось в этих исследованиях и было произведено в Incyte Corporation. В этих исследованиях использовался руксолитиниб, произведенный компанией Wilmington PharmaTech.

#### *Методы*

Самкам мышей SCID в возрасте около 5-6 недель подкожно инокулировали 10<sup>7</sup> клеток SET-2 в матригеле. Дозирование начинали, когда размер опухоли достиг около 200 мм<sup>3</sup>. Дозирование для этих исследований проводилось перорально через желудочный зонд.

Для исследований эффективности измерения опухолей проводились каждые 2-3 дня с помощью цифрового штангенциркуля. Объемы опухоли рассчитывали по формуле: Объем=(длина x ширина<sup>2</sup>)/2, где ширина была меньшим размером. Также контролировали массу тела.

Животных умерщвляли (1) в конце исследования, (2) если размер опухоли достигал 10% от общей массы тела или (3) при потере 20% массы тела.

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Prism Graphpad. Все сравнения были выполнены с использованием двухфакторного дисперсионного анализа с  $p < 0,05$ , что считалось значимым.

#### *Эффективность Соединения 1 в модели ксенотрансплантата HEL, экспрессирующего JAK2 V617F, эритролейкемии*

Цель этого исследования заключалась в изучении способности ингибитора ВЕТ Соединения 1 ингибировать рост опухоли в модели MPN-подобного AML, экспрессирующего мутацию JAK2 V617F. Самкам мышей SCID подкожно инокулировали

$10^7$  клеток HEL в матригеле. Когда опухоли достигли около  $160 \text{ мм}^3$ , мышам ( $n=10$  в группе) вводили перорально Соединение 1 в течение 14 дней следующим образом:

1. Дважды в сутки в дозе 1 или 3 мг/кг или контрольную несущую среду
2. QD в дозе 3, 10 или 30 мг/кг

Как показано на FIG. 1A, введение Соединения 1 ингибировало рост опухоли дозозависимым образом, и средние объемы опухоли в каждой из групп лечения Соединением 1 были статистически значимо снижены по сравнению с группой, получавшей носитель ( $p < 0,02$  для каждой группы, двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA). Доза 30 мг/кг QD была наиболее эффективной и приводила к одной статистической регрессии опухоли. Данные показывают, что дозирование Соединения 1 по схеме BID можно было бы рассмотреть, но в этом нет необходимости, поскольку дозирование QD так же эффективно, как дозирование BID в этой модели. Все дозы переносились, что определялось отсутствием потери массы тела, как показано на Фиг. 1B.

*Эффективность комбинации Соединения 1 и руксолитиниба в модели ксенотрансплантата SET-2*

Самкам мышей SCID подкожно инокулировали  $10^7$  клеток SET-2 в матригеле. Когда объем опухоли достиг около  $175 \text{ мм}^3$ , мышам ( $n=8$  в группе) вводили перорально в течение 14 дней следующие дозы:

1. Контрольная несущая среда или руксолитиниб в дозе 30 мг/кг BID
2. Соединение 1 в дозе 10 мг/кг QD
3. Комбинация руксолитиниба и Соединения 1

Соединение 1 и руксолитиниб дозировали субоптимально для оптимального считывания возможных комбинаторных эффектов. Как показано на Фиг. 2A, обе монотерапии значительно ингибировали рост опухоли по сравнению с контрольными носителями ( $p < 0,02$  для каждого, двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA). Кроме того, комбинация Соединения 1 и руксолитиниба давала повышенную и достоверную ( $p < 0,007$  для комбинации по сравнению с обоими группами с одним препаратом; двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA) эффективность по сравнению с ожидаемыми результатами, основанными на эффективности одного агента. Около 15% потери массы тела действительно имели место в группе комбинированного лечения (Фиг. 2B), но этот надир был в пределах переносимости.

*Эффективность комбинации Соединения 1 и руксолитиниба в модели ксенотрансплантата SET-2*

Самкам мышей SCID подкожно инокулировали  $10^7$  клеток SET-2 в матригеле. Когда опухоли достигали около  $150 \text{ мм}^3$ , мышам ( $n=8$  в группе) вводили перорально в течение 11 дней следующие дозы:

1. Контрольная несущая среда или руксолитиниб в дозе 60 мг/кг BID
2. Соединение 1 в дозе 10 мг/кг QD
3. Комбинация руксолитиниба и Соединения 1

В этом исследовании руксолитиниб вводили в более высокой дозе, чем в 1,2, что приводило к значительному ингибированию роста опухоли в качестве монотерапии (Фиг. 3А). Введение Соединения 1 с руксолитинибом не увеличивало ингибирование роста опухоли, наблюдаемое при монотерапии руксолитинибом или монотерапии Соединением 1. Все дозы переносились, хотя комбинация Соединения 1 и руксолитиниба действительно приводила к снижению массы тела (Фиг. 3В, на около 12%) в пределах допустимого.

Ингибитор ВЕТ Соединение 1 эффективен в переносимых дозах на двух моделях JAK2V617F AML. Комбинация Соединения 1 с субоптимальной дозой ингибитора JAK1/2 руксолитиниба (30 мг/кг два раза в день) приводит к значительному увеличению ингибирования роста опухоли по сравнению с монотерапией. Эти данные демонстрируют потенциал ингибиторов ВЕТ в сочетании с ингибиторами JAK при миелоидных новообразованиях, вызванных JAK2V617F.

**Пример 2: Эффективность соединения 1 в комбинации с руксолитинибом на мышинной модели MPLW515L-управляемой MPN,**

*Соединение и составы:*

В этих исследованиях использовали Соединение 1 и руксолитиниб, которые были произведены компанией Wilmington PharmaTech.

*Методы*

За одну неделю до трансплантации костного мозга восьминедельным самкам мышей Balb/c (Charles River Laboratories) однократно внутрибрюшинно вводили 150 мг/кг 5-фторурацила. Через пять дней этих мышей умерщвляли и собирали костный мозг путем аспирации бедренных костей. Эритроциты лизировали с использованием буфера BD Pharma Lyse (BD Biosciences), затем промывали PBS. Оставшийся костный мозг высеивали в 10% FBS/RPMI на ночь в стандартной инкубации клеточных культур. На следующий день костный мозг инфицировали экотропным ретровирусом (пуромициновый остов MSCV), экспрессирующим ген MPLW515L, путем добавления 1 мл вируса к 10<sup>6</sup> клеткам с последующим центрифугированием при 1800 об/мин, 37°C, 90 минут в 6-луночных планшетах. После центрифугирования инфицированные клетки хранили в инкубаторе до следующего дня, когда их вводили реципиентам.

Костный мозг мышей-реципиентов удаляли у восьминедельных мышей Balb/c с использованием 50 мг/кг 5-фторурацила за пять дней до трансплантации костного мозга Balb/c, экспрессирующего MPLW515L, посредством ретровирусной инфекции (около 2×10<sup>5</sup> клеток на мышь-реципиента). Анализы крови были выполнены через 7 дней после трансплантации, и для лечения были созданы 4 когорты (n=10 в когорте) с одинаковым средним числом тромбоцитов. Введение дозы начинали на 8-й день после имплантации и продолжали в течение 13 дней. На 14-й день после имплантации мышей умерщвляли, кровь собирали путем пункции сердца и взвешивали селезенки в качестве суррогатного показателя бремени болезни.

Кровь собирали через глазничный синус один раз в неделю и определяли общий анализ крови (CBC) с помощью гематологического инструментария (Abaxis, модель HM5).

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Prism Graphpad. Все сравнения проводились с использованием непарных t-тестов, при этом значимость  $p < 0,05$  считалась значимой.

#### *Эффективность Соединения 1 в комбинации с руксолитинибом на модели MPLW515L мышью МПН*

Самкам мышей Balb/c трансплантировали MPLW515L экспрессирующий костный мозг для оценки способности ВЕТ-ингибитора Соединения 1 повышать активность руксолитиниба в отдельности в доклинической модели МПН. На 7-й день после трансплантации мышью рандомизировали в когорты для дозирования на основе уровней тромбоцитов, определенных с помощью общего анализа крови. На следующий день начинали пероральное введение дозы мышам, получавшим Соединение 1 в дозе 10 мг/кг QD, руксолитиниб в дозе 60 мг/кг BID, комбинацию Соединения 1 и руксолитиниба или контрольную несущую среду. Введение доз проводили в течение 14 дней, после чего у мышью брали кровь на общий анализ крови, собирали и взвешивали селезенки в качестве суррогатного показателя бремени болезни. Две мыши, получавшие несущую среду, умерли до окончания исследования на 14-й день после введения дозы, одна на 12-й день после введения дозы и одна на 13-й день после введения дозы.

В то время как каждое отдельное средство было способно уменьшить размер селезенки, комбинация показала наибольшую эффективность. У мышью, обработанных комбинацией Соединение 1/руксолитиниб, селезенки были значительно меньше, чем у мышью, которым вводили каждый отдельный агент (Фиг. 4А). Руксолитиниб оказывал более сильное влияние на снижение числа лейкоцитов, чем Соединение 1, и было небольшое различие между количеством лейкоцитов у мышью, получавших руксолитиниб, и у мышью, получавших комбинированную терапию (Фиг. 4В).

Статистику определяли с помощью непарных t-тестов, выполненных с использованием программного обеспечения Prism Graphpad (\*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ).

В дозах, выбранных для этого исследования, как Соединение 1, так и руксолитиниб были способны замедлять размножение лейкоцитов и подавлять спленомегалию, вызванную MPLW515L, экспрессирующей костный мозг. Комбинация Соединения 1 с руксолитинибом приводила к значительному снижению бремени болезни по сравнению с любой монотерапией, что измерялось по массе селезенки. Эти данные демонстрируют потенциал ингибиторов ВЕТ в сочетании с ингибиторами JAK при миелопролиферативных новообразованиях.

#### **Пример 3: Статистическая демонстрация синергизма между соединением 1 и руксолитинибом**

Синергизм между Соединением 1 и руксолитинибом оценивали с использованием уравнения Чоу-Талалая (см. Чоу, «Drug Combination Studies and their Synergy

Quantification Using the Chou-Talalay Method», *Cancer Res*, 70(2), 15 января 2010 г., включено в данный документ посредством ссылки). Синергизм показывает больший эффект от комбинации, чем можно было бы ожидать, исходя из того, как работают отдельные соединения. В Таблице 1 представлены данные для двух описанных в данном документе экспериментов. Первый указанный набор данных представляет собой модель MPLW515L, массы селезенки используются в качестве маркеров прогрессирования заболевания (т. е. большая селезенка=более тяжелое заболевание). MPL SPL отображает размеры селезенки в граммах модели мышинных MPLW515L МПН. Fa показывает затронутую долю, которая представляет собой процентное изменение по сравнению с несущей средой. В ожидаемой строке показан ожидаемый эффект от комбинации на основе индекса синергии Чоу-Талалая. Поскольку это число меньше, чем эффект в затронутой фракции, это демонстрирует больший эффект, чем ожидалось, от комбинации Соединения 1 и руксолитиниба, демонстрируя, что между двумя соединениями возникает синергизм, дающий неожиданный эффект. Второй эксперимент представляет собой SET-2, который представляет собой JAK2V617F экспрессирующую клеточную линию, используемую в модели ксенотрансплантата опухоли. Fa для SET-2 представляет собой уровни ингибирования роста опухоли для каждой используемой дозы и комбинации. И снова ожидаемое значение меньше фактического эффекта, демонстрируя неожиданный синергизм. В обоих экспериментах уравнение Чоу-Талалая дало нам значение, которое было меньшим, чем эффект, наблюдаемый с комбинациями руксолитиниба и Соединения 1, это интерпретируется как синергизм комбинации в каждом эксперименте.

Таблица 1

	<b>Несущая среда</b>	<b>Руксолитиниб 60 мг/кг BID</b>	<b>Соединение 1 10 мг/кг QD</b>	<b>Комбинация</b>
<b>MPL SPL</b>	0,812975	0,3367	0,3611	0,0965
<b>Fa</b>		0,585842123	0,5558289	0,881300163
<b>Ожидаемый</b>				0,81604304
<b>SET-2</b>				
<b>Fa</b>		0,44	0,24	0,71
<b>Ожидаемый</b>				0,5744

**Пример 4: Протокол клинического исследования соединения 1 в качестве монотерапии у участников с миелофиброзом**

*Дизайн исследования*

Это открытое исследование Фазы 1, состоящее из 2 частей, по применению Соединения 1 в качестве монотерапии у участников с рецидивирующим или рефрактерным миелофиброзом (дополнительные подробности см. в «Исследовании безопасности и переносимости INCB057643 у участников с миелофиброзом»,

ClinicalTrials.gov, идентификатор: NCT04279847, который полностью включен в данный документ посредством ссылки). INCB057643 также упоминается как Соединение 1 в данном раскрытии В число участников входят те, кто получил по крайней мере 1 линию предшествующей терапии, включая руксолитиниб, и у которых нет доступной дополнительной терапии, которая, как известно, обеспечивает клиническую пользу, и с категорией риска промежуточный-2 или высокий в соответствии с DIPSS (Международная динамическая система прогностической оценки) Участники будут получать 4 мг QD Соединения 1 на постоянной основе.

Исследование будет проводиться в 2-х частях. В Части 1 будет оцениваться первоначальная безопасность и переносимость 4 мг QD соединения 1 у участников с рецидивирующим или рефрактерным миелофиброзом. Исследуемый препарат будет вводиться самостоятельно один раз в день каждый день в течение 28 дней, что составляет 1 цикл. Участники будут продолжать принимать исследуемый препарат до тех пор, пока не будет достигнута польза и не будут соблюдены критерии отмены.

Если начальная доза 4 мг QD считается переносимой в Части 1, начальная доза в Части 2 будет составлять 4 мг QD; в противном случае начальная доза в Части 2 будет составлять 2 мг QD. В части 2 Соединение 1 также будет вводиться в качестве монотерапии.

На протяжении всего исследования, как в Части 1, так и в Части 2, будет осуществляться постоянный мониторинг НЯ. Если кумулятивная частота НЯ 3-й или 4-й степени, связанных с приемом лекарств, возникает у > 40% участников, исследование будет остановлено. Аналогичным образом, при более чем 1 летальном исходе, связанном с приемом лекарств, исследование будет остановлено. Исследование может быть возобновлено только после обсуждения с FDA

#### *Фармакокинетика Соединения 1 в качестве монотерапии*

Клиническую фармакокинетику Соединения 1 у участников с прогрессирующими злокачественными новообразованиями (солидными и гематологическими злокачественными новообразованиями) оценивали в фазе 1/2 открытого исследования повышения дозы/расширения дозы, безопасности и переносимости. Участники получали непрерывные дозы Соединения 1 QD. На дату окончания сбора данных (23 сентября 2019 г.) 25, 101 и 8 участников, получивших 8 мг, 12 мг и 16 мг, соответственно, в части 1 и части 2 (Соединение 1 в качестве монотерапии) были оценены на предмет фармакокинетики. ФК-параметры исходного Соединения 1 просуммированы в Таблице 2 и Таблице 3 (см. Фиг. 5). В таблице 2 представлена сводка фармакокинетических параметров Соединения 1 для Соединения 1 в качестве монотерапии (часть 1 и 2) в цикле 1, день 1. В таблице 3 представлена сводка фармакокинетических параметров Соединения 1 для Соединения 1 в виде монотерапии (часть 1 и 2) при устойчивом -состояние (цикл 1 день 8).

#### **Таблица 2**

Аналит	Доза	Участник (и)	$C_{max}$ (нМ)	$T_{max}$ (ч)	$AUC_{last}$ (ч*нМ)
Соединение 1 (исходное)	8 мг	N=12	201 ± 83,6 188 (38,8)	2,00 (1,00, 24.0)	2310 ± 1120 2090 (50,1)
	12 мг	N=99	266 ± 94,7 249 (39,1)	0,50 (2,00, 8,00)	2740 ± 1090 2550 (39,5)
	16 мг	N=7	343 ± 93,2 329 (34,5)	2,00 (2,00, 4,00)	3370 ± 1060 3210 (34,3)

Примечание: Значения представлены в формате среднего ± SD и среднего геометрического (CV%), за исключением того, что  $T_{max}$  указывается как медиана (диапазон).

Образцы крови для определения концентраций Соединения 1 в плазме в Частях 1 и 2 собирали перед введением дозы в День 1 Цикла 1, День 2 Цикла 1 и День 8 Цикла 1, и через 0,5, 1, 2, 4, 6 и 8 часов Цикла 1 Дня 1, и Цикла 1 Дня 8. Образцы плазмы, содержащие Соединение 1, анализировали валидированным методом ЖХ-МС/МС.

При многократном введении натошак концентрации Соединения 1 в плазме достигали пиковых значений ( $C_{max}$ ), как правило, через 1-2 часа (медиана  $T_{max}$ ) после введения дозы, а затем демонстрировал монофазный распад со средним геометрическим значением  $t_{1/2}$  в стационарном состоянии, равным около 10 часам, который не зависел от дозы. Прогнозируется, что равновесное состояние будет достигнуто через 2 дня при приеме один раз в день, исходя из эффективного периода полувыведения, равного 10 часам. При сравнении  $AUC_{0-24}$  в стационарном состоянии с  $AUC_{0-24}$  первой дозы наблюдается минимальное накопление экспозиции Соединения 1 (<10%). В диапазоне доз от 8 до 16 мг QD увеличение равновесной  $C_{max}$  и  $AUC_{0-24}$  Соединения 1 было пропорционально дозе, то есть Соединение 1 проявляло приблизительно линейную фармакокинетику в исследованном диапазоне доз. Дисперсионный анализ ANOVA нормированных по дозе фармакокинетических параметров ( $C_{max, ss}$  и  $AUC_{ss,0-24}$ ) с использованием общего теста или попарных сравнений (см. Таблицу 2) показал, что нормированные по дозе  $C_{max, ss}$  или  $AUC_{ss,0-24}$  не отличались статистически значимо ( $P > 0,05$ ) между дозами или между ними. Соединение 1 характеризовалось низким пероральным клиренсом в стационарном состоянии со средним геометрическим значением  $CL_{ss}/F$  9,92-10,7 л/ч и умеренным объемом распределения со средним геометрическим значением  $V_z/F$  138-197 л. При дозе 12 мг QD геометрическое среднее значение (CV%)  $t_{1/2}$ ,  $C_{max}$  в равновесном состоянии и  $AUC_{0-24}$  составляли 9,17 ч (49,7%), 272 нМ (40,9%) и 2740 ч\*нМ (43,2%) соответственно.

Рассчитанная  $AUC_{0-24}$  в равновесном состоянии для Соединения 1 составляет 457 ч\*нМ и 913 ч\*нМ для 2 мг QD и 4 мг QD, соответственно, на основе линейной фармакокинетической экстраполяции из среднего геометрического  $AUC_{ss,0-24}$  для 12 мг

QD. Смоделированные данные фармакокинетики Соединения 1 при дозе 4 мг QD представлены на ФИГ. 7

*Фармакодинамика лечения Соединением 1 в качестве монотерапии*

Фармакодинамический анализ проводили с использованием анализа *ex vivo*, измеряющего уровни белка сМус, гена-мишени BRD4, в клетках KMS12BM, которые были добавлены в образцы плазмы участников, собранные до и в различные моменты времени после введения дозы. В предварительном фармакодинамическом анализе после перорального введения 8 мг, 12 мг и 16 мг Соединение 1 продемонстрировало ингибирование общей экспрессии белка сМус с максимальным ингибированием, происходящим между 1 и 4 часами. Среднее ингибирование сМус в равновесном состоянии (день 8, от приема до 8 часов) составляло 30%, 44% и 65% для дозы 8 мг (n=11), 12 мг (n=51) и 16 мг. (n=7) соответственно. Максимальное индивидуальное пиковое ингибирование общей экспрессии белка сМус варьировалось от 16% до 77% при дозе 8 мг, от 20% до 92% при дозе 12 мг и от 61% до 97% при дозе 16 мг. Ингибирование сМус было снижено до <10% на минимуме (Цикл 1, день 8 перед введением) в когортах 8-мг и 12-мг и ~30% в когорте 16-мг. Составная кривая ФК ФД была построена для 70 участников, и значение IC<sub>50</sub>, равное 202,4 нМ, было определено путем подбора кривой нелинейной регрессии (см. ФИГ. 6). Охват IC<sub>50</sub> *ex vivo* при стационарных концентрациях соединения 1 показан на фиг. 7.

*Взаимосвязь стабильного состояния AUC соединения 1 и нежелательных явлений, возникающих при лечении*

Выбранные конечные точки клинической безопасности, которые считались подходящими (например, часто возникающие ТЕАЕ (нежелательные явления, возникающие при лечении), частота инцидентов > 20% для всех АЕ (нежелательных явлений) и клинически заметные нежелательные явления) использовались для оценки соотношения воздействие-безопасность. Данные по безопасности от в общей сложности 106 участников (включая солидные опухоли и гематологические злокачественные новообразования), получающих монотерапевтическое лечение Соединением 1 (n=10 при 8 мг, n=89 при 12 мг и n=8 при 16 мг) в частях 1. и 2 были использованы для анализа. Часто возникающие ТЕАЕ (всех степеней и причинно-следственной связи) у участников, получивших хотя бы 1 дозу исследуемого препарата, включали тошноту (47,9%), утомляемость (45,5%), снижение аппетита (35,5%), тромбоцитопению (28,9%), рвоту (28,1%), анемию (27,3%), диарею (27,3%), запор (20,7%) и дисгевзию (19,8%), а также клинически значимые НЯ, включая гипергликемию (17,4%), носовое кровотечение (9,9%), повышение МНО (8,5%) и желудочно-кишечное кровотечение (1,9%).

Статистически значимой корреляции между AUC соединения 1 в равновесном состоянии и любыми ТЕАЕ или клинически значимыми АЕ, оцененными в этом анализе, не выявлено, за исключением гипергликемии (значение  $p < 0,05$ ). На ФИГ. 8 показана предсказанная моделью и наблюдаемая взаимосвязь между AUC соединения 1 в равновесном состоянии и вероятностью гипергликемии. Предсказанная вероятность

возникновения гипергликемии при дозе 2 мг и 4 мг составляет 8,0% и 9,2% соответственно, исходя из соотношения AUC и гипергликемии (Примечание: незаштрихованные квадраты обозначают первый (893-2035 ч\*нМ), второй (2074-2605 ч\*нМ), третий (2622-3564 нМ) и четвертый (3606-9788 нМ) квартили Соединения 1 AUC<sub>ss,0-24</sub>). Отсутствие корреляции между AUC<sub>ss,0-24</sub> Соединения 1 и ТЕАЕ может быть связано с узким диапазоном доз (8, 12 или 16 мг), исследованным в этом исследовании, и небольшими размерами выборки в группах исследования 8-мг и 16-мг. (большинство участников получили 12 мг).

В Таблице 4 перечислены оцененные параметры для соединения 1 AUC и увеличения МНО 3 степени (международное нормализованное отношение) и желудочно-кишечного кровотечения 4 степени. У участников, одновременно принимавших варфарин, произошло два случая МНО 3 степени. AUC в равновесном состоянии у этих 2 участников составляла 6990 ч\*нМ и 9770 ч\*нМ, получавших Соединение 1 в дозе 12 мг QD и 16 мг QD, соответственно, и AUC были намного выше, чем среднее геометрическое AUC в равновесном состоянии в дозе 12 мг QD (2740 ч\*нМ) и 16 мг QD (3610 ч\*нМ) соответственно.

Два эпизода желудочно-кишечного кровотечения 4 степени тяжести наблюдались у 2 участников, получавших дозу 12 мг QD, и равновесная AUC этих 2 участников составляла 3470 ч\*нМ и 3610 ч\*нМ соответственно, а AUC были немного выше среднего геометрического AUC в равновесном состоянии в дозе 12 мг QD.

**Таблица 4**

<b>Участники</b>	<b>Нежелательное явление</b>	<b>Степень</b>	<b>Доза (мг)</b>	<b>AAUC<sub>ss,0-24</sub> (ч*нМ)</b>
1011	Желудочно-кишечное кровотечение	4	12	3470
9002	Желудочно-кишечное кровотечение	4	12	2150
12005	МНО увеличилось	3	12	6990
16001	МНО увеличилось	3	16	9790

**Пример 5: Эффективность соединения 1 в комбинации с руксолитинибом у участников с миелофиброзом.**

Предварительная эффективность (уменьшение длины и/или объема селезенки) наблюдалась у 2 из 3 участников с миелофиброзом, получавших лечение в упомянутом в данном документе исследовании (для получения дополнительной информации см. «Исследование безопасности и переносимости INCB057643 у участников с миелофиброзом», ClinicalTrials.gov, идентификатор: NCT04279847, который полностью включен в данный документ посредством ссылки). Всем трем участникам вводили руксолитиниб в течение 6 месяцев до этого. Первый участник и второй участник имели рецидив миелофиброза, который лечили монотерапией Соединением 1. Третьего

участника лечили руксолитинибом в качестве монотерапии, но имели не оптимальные ответы. В ответ на неоптимальные ответы третьему участнику затем вводили Соединение 1 в комбинации с руксолитинибом.

Первый участник получал монотерапию Соединением 1 в дозе 12 мг QD и имел уменьшение длины селезенки на 92,5% при пальпации селезенки (самый низкий показатель по сравнению с исходным уровнем). Второй участник с рецидивом миелофиброза получал монотерапию Соединением 1 в дозе 8 мг QD. Второй участник, принимавший более низкую дозу Соединения 1, в результате имел только прогрессирование заболевания, и второй участник оставался в исследовании в течение 24 дней. Третий участник получал Соединение 1 8 мг QD в комбинации с руксолитинибом, и у него наблюдалось уменьшение длины селезенки на 77% при пальпации селезенки и уменьшение объема селезенки на 44% при визуализации (самое низкое значение по сравнению с исходным уровнем). Чтобы представить положительные результаты первого и третьего участников в контексте, когда монотерапия руксолитинибом применялась в клинических испытаниях, наблюдалось около 35% уменьшение размера селезенки (более подробную информацию см. Verstovsek S., Morgan G. "Results of COMFORT- I, a randomized double-blind phase III trial of JAK 1/2 inhibitor INCB18424 (424) vs placebo (PB) for patients with myelofibrosis (MF)", Abstract #6500. 2011 American Society of Clinical Oncology Annual Meeting, включено полностью в данный документ посредством ссылки).

О дополнительной предварительной эффективности ингибитора BET (CPI-0610) у участников с миелофиброзом также сообщалось в исследовании MANIFEST (NCT02158858; Hoffman et al. 2019, Mascarenhas et al. 2019, которое полностью включено в данный документ посредством ссылки). Зарегистрированные участники с миелофиброзом были либо рефрактерными, нетолерантными или не подходящими для лечения руксолитинибом (в когорте монотерапии CPI-0610), либо получали руксолитиниб, но имели не оптимальный ответ или прогрессирование миелофиброза (в когорте CPI-0610 и комбинации руксолитиниба). У участников наблюдалось большее уменьшение объема селезенки, которое варьировалось от 6% до 44% у 10 оцениваемых участников (монотерапия и комбинированная терапия).

Различные модификации изобретения, в дополнение к описанным в данном документе, будут очевидны специалистам в данной области техники из вышеприведенного описания. Такие модификации также подпадают под объем прилагаемой формулы изобретения. Каждая ссылка, включая без ограничения все патенты, патентные заявки и публикации, цитируемые в данной заявке, полностью включена в данное описание посредством ссылки.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Способ лечения миелопролиферативного новообразования у нуждающегося в этом пациента, включающий введение указанному пациенту 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-она или его фармацевтически приемлемой соли; и руксолитиниба или его фармацевтически приемлемой соли.

2. Способ по п. 1, при котором руксолитиниб или его фармацевтически приемлемая соль представляют собой фосфат руксолитиниба.

3. Способ по п. 1 или п. 2, при котором 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-он представляет собой твердую форму.

4. Способ по п. 3, при котором твердая форма представляет собой ангидрид.

5. Способ по п. 3, при котором твердая форма представляет собой форму I.

6. Способ по п. 5, при котором форма I имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в пересчете на 2-тета, выбранных из около 8,7, около 9,8, около 11,6, около 12,7, около 14,7, около 15,7, около 20,0, около 21,4, около 23,3 и около 27,1 градусов.

7. Способ по п. 3, при котором твердая форма имеет форму II.

8. Способ по п. 7, при котором форма II имеет один или несколько характеристических пиков XRPD в пересчете на 2-тета, выбранных из около 6,7, около 9,5, около 10,5, около 14,8, около 16,2, около 17,0, около 18,8 и около 19,3 градусов.

9. Способ по любому из пп. 1-8, при котором доза руксолитиниба или его фармацевтически приемлемой соли составляет от около 5 мг/сутки до около 60 мг/сутки.

10. Способ по любому из пп. 1-8, при котором доза руксолитиниба или его фармацевтически приемлемой соли составляет от около 2,5 мг два раза в сутки до около 30 мг два раза в сутки.

11. Способ по любому из пп. 1-10, при котором доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет от около 2 мг/сутки до около 20 мг/сутки.

12. Способ по любому из пп. 1-10, при котором доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет от около 2 мг/сутки до около 18 мг/сутки.

13. Способ по любому из пп. 1-10, при котором доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет от около 2 мг/сутки до около 12 мг/сутки.

14. Способ по любому из пп. 1-10, при котором доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-

бензоксазин-3(4Н)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет от около 4 мг/сутки до около 8 мг/сутки.

15. Способ по любому из пп. 1-10, при котором доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 2, около 4, около 6, около 8, около 10, около 12, около 14, около 16, около 18 или около 20 мг/сутки в пересчете на свободное основание.

16. Способ по любому из пп. 1-10, при котором доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 2 мг/сутки в пересчете на свободное основание.

17. Способ по любому из пп. 1-10, при котором доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 4 мг/сутки в пересчете на свободное основание.

18. Способ по любому из пп. 1-10, при котором доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 6 мг/сутки в пересчете на свободное основание.

19. Способ по любому из пп. 1-10, при котором доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 8 мг/сутки в пересчете на свободное основание.

20. Способ по любому из пп. 1-10, при котором доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 10 мг/сутки в пересчете на свободное основание.

21. Способ по любому из пп. 1-10, при котором доза 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2Н-1,4-бензоксазин-3(4Н)-она или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 12 мг/сутки в пересчете на свободное основание.

22. Способ по любому из пп. 1-21, при котором миелопролиферативное новообразование выбрано из истинной полицитемии (ИП), эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ), первичного миелофиброза, хронического миелогенного лейкоза (ХМЛ), хронического миеломоноцитарного лейкоза (ХММЛ), гиперэозинофильного синдрома (ГЭС), системной заболевания тучных клеток (СЗТК), хронического нейтрофильного лейкоза (ХНЛ) и хронического эозинофильного лейкоза.

23. Способ по п. 22, при котором миелопролиферативное новообразование представляет собой истинную полицитемию (ИП).

24. Способ по п. 22, при котором миелопролиферативное новообразование представляет собой эссенциальную тромбоцитемию (ЭТ).

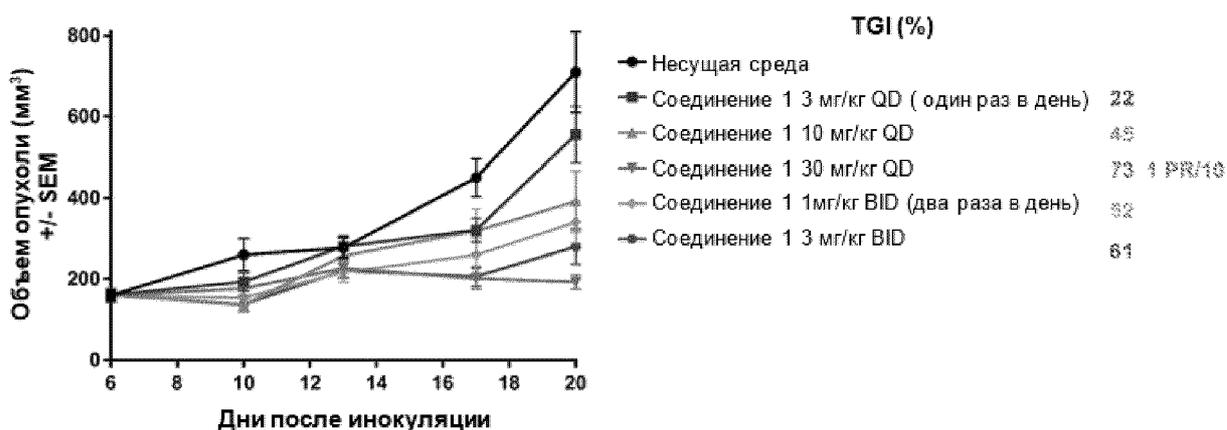
25. Способ по п. 22, при котором миелопролиферативное новообразование представляет собой первичный миелофиброз.

26. Способ по любому из пп. 1-25, при котором руксолитиниб или его фармацевтически приемлемую соль и 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он или его фармацевтически приемлемую соль вводят перорально.

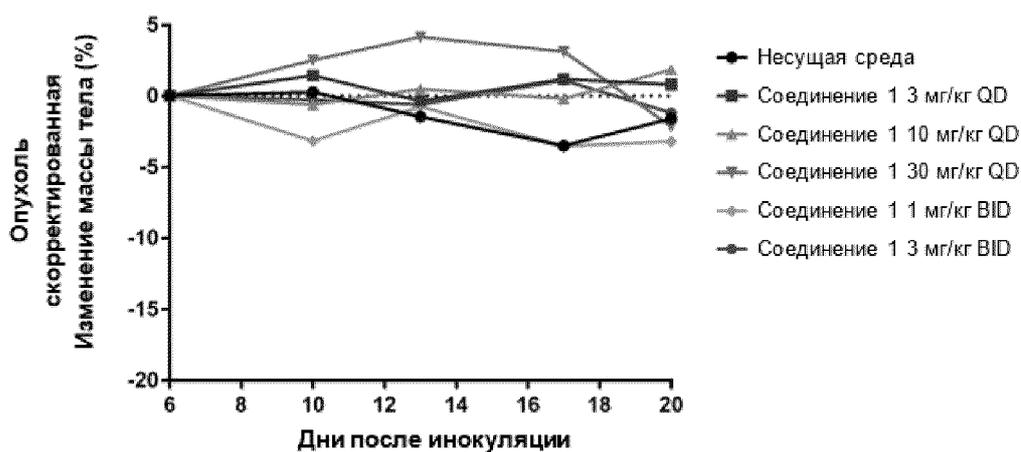
27. Способ по любому из пп. 1-26, при котором руксолитиниб или его фармацевтически приемлемую соль и 2,2,4-триметил-8-(6-метил-7-оксо-6,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-с]пиридин-4-ил)-6-(метилсульфонил)-2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он или его фармацевтически приемлемую соль вводят одновременно или последовательно.

По доверенности

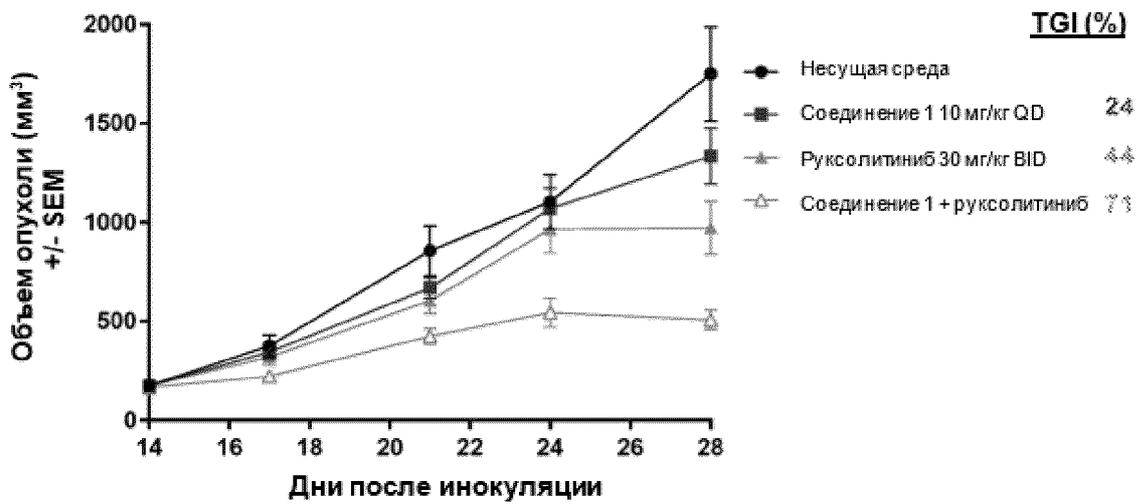
1/7



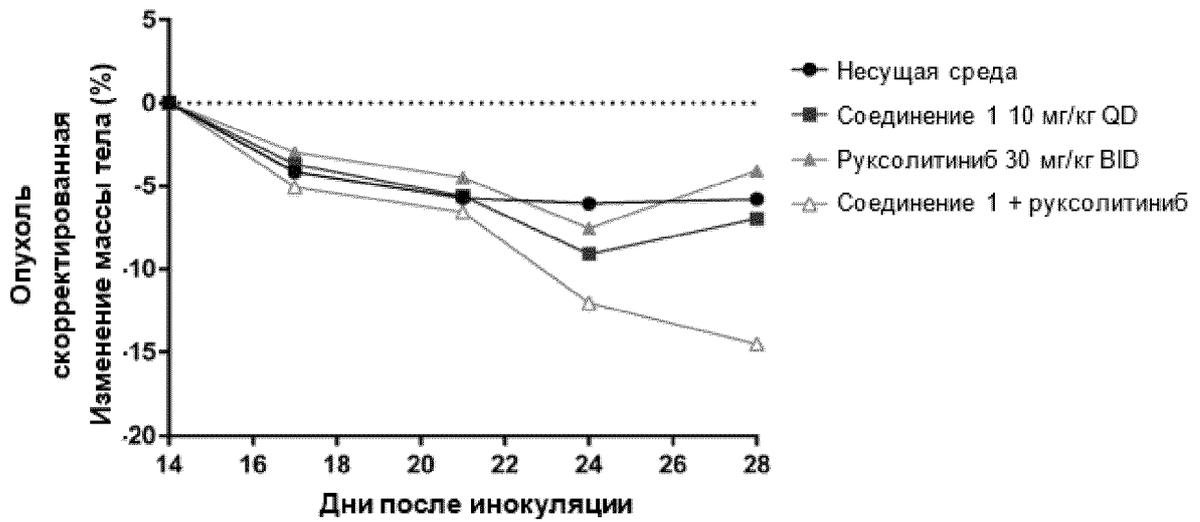
Фиг. 1А



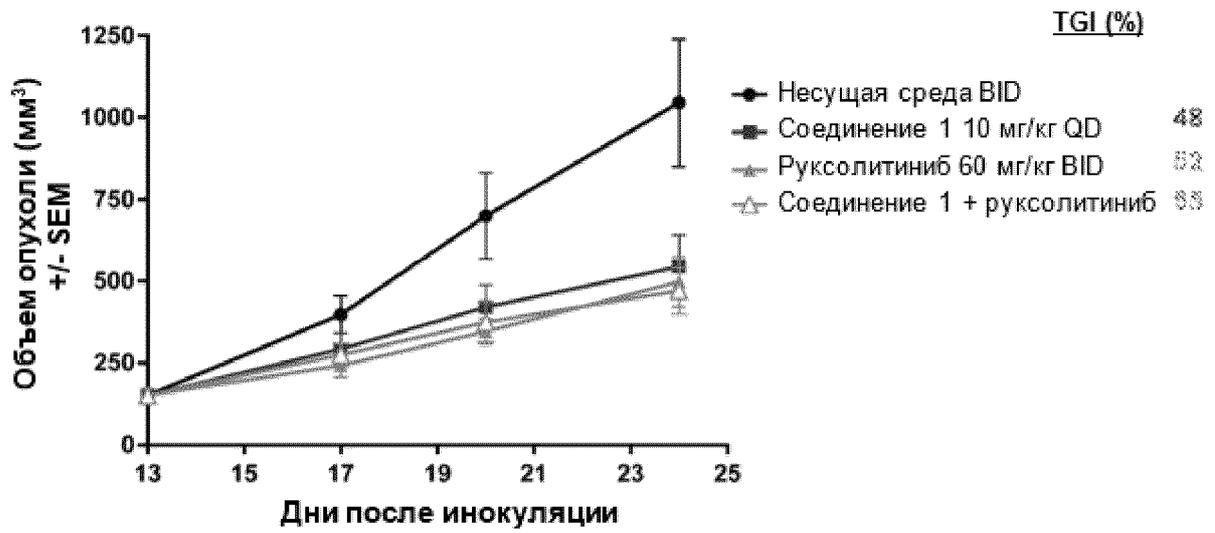
Фиг. 1В



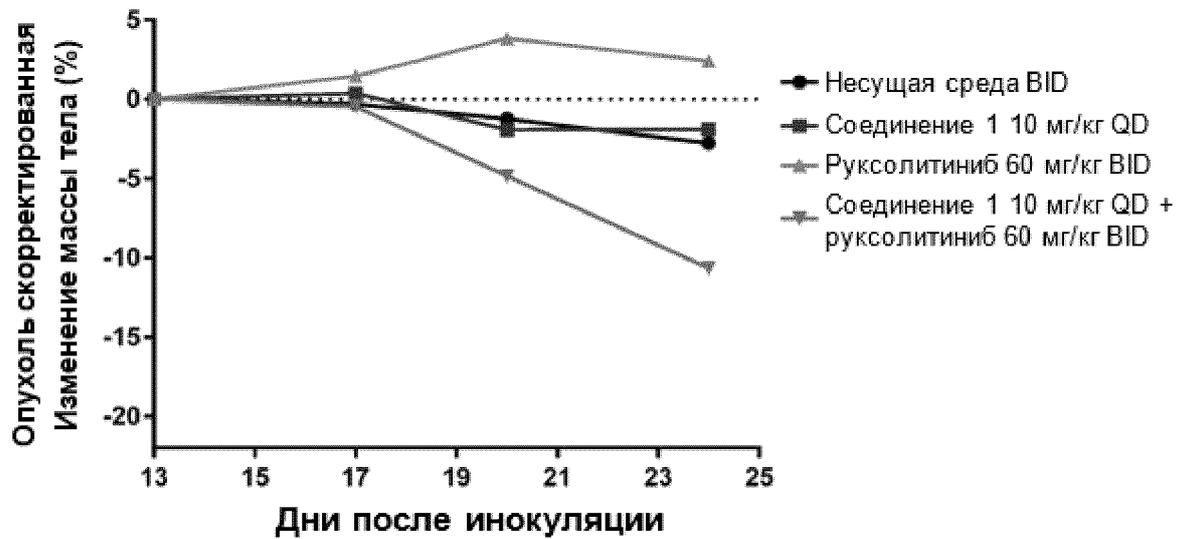
Фиг. 2А



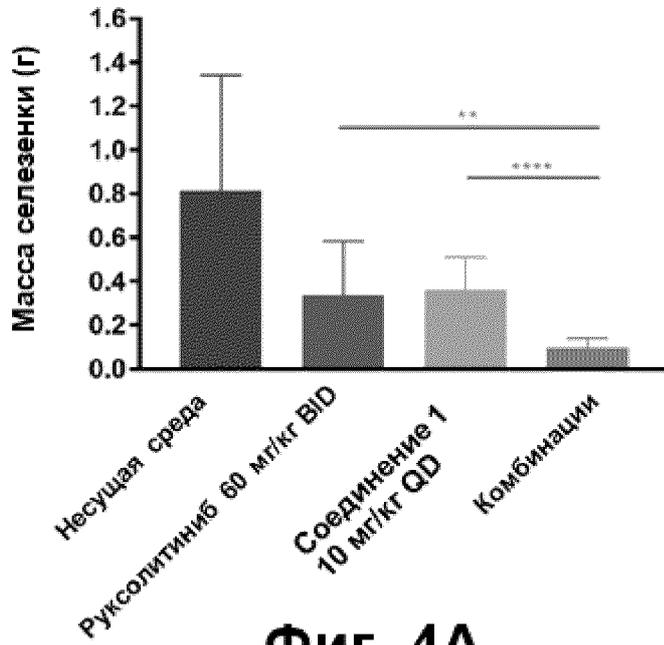
Фиг. 2В



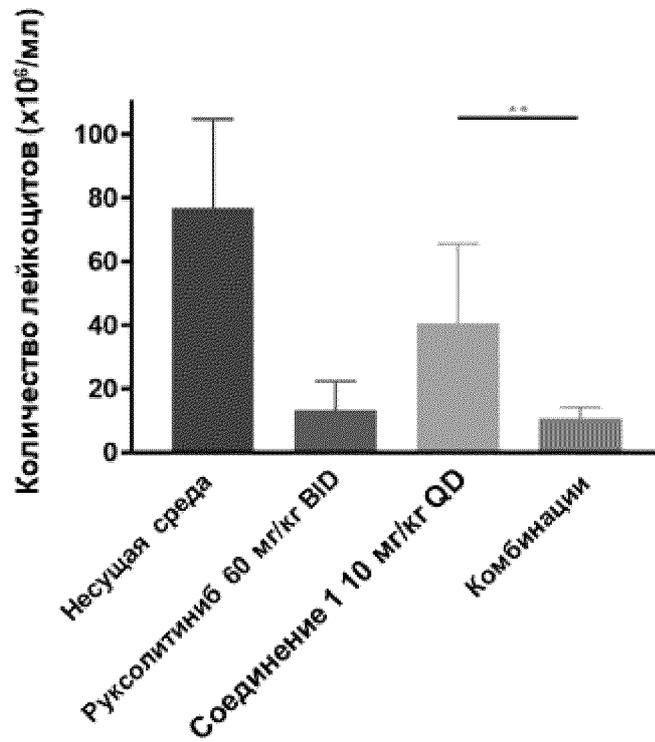
Фиг. 3А



Фиг. 3В



Фиг. 4А



Фиг. 4В

Таблица 3

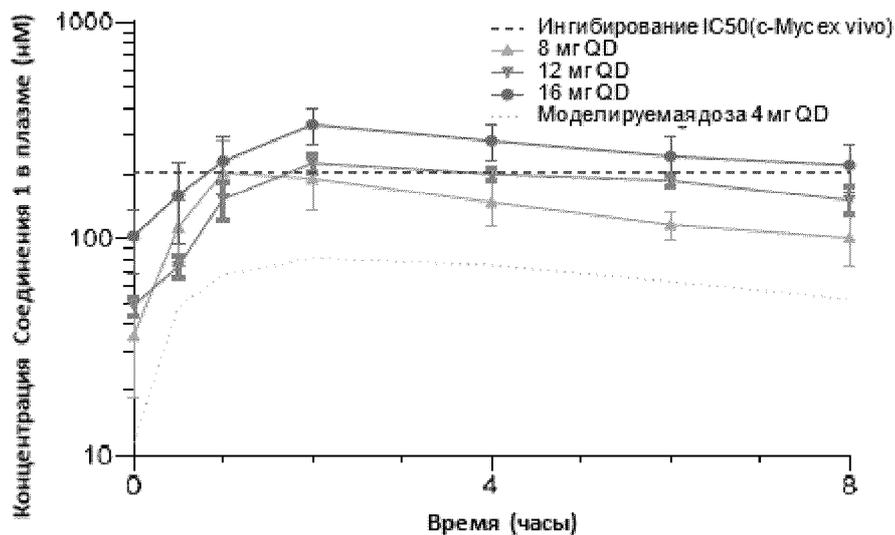
Анализируемое вещество	Доза	Участник(n)	C <sub>max,ss</sub> (нМ)	T <sub>max</sub> (ч)	t <sub>1/2</sub> (ч)	C <sub>min,ss</sub> (нМ)	AUC <sub>0-24</sub> (нМ·ч)	Cl <sub>ss</sub> /F (л/ч)	V <sub>d</sub> /F (л)	
Соединение 1 (Исходное)	8 мг	N= 10	210 ±93,2 191 (50,3)	1,00 (1,00, 4,00)	10,7 ±5,51 9,67 (50,8)	35,5 ± 27,8 27,1 (92,9)	2100 ±869 1940 (45,1)	10,8 ±4,99 9,92 (45,1)	150 ±57,6 138 (46,1)	
	12 мг	N = 89	293 ±113 272 (40,9)	0,50 (2,00, 8,00)	11,0 ±14,8 9,17 (49,7)	50,6 ± 41,8 39,1 (82,5)	2990 ± 1330 2740 (43,2)	11,4 ±4,86 10,5 (43,2)	158 ±99,9 139 (51,2)	
	16 мг	N = 7	340 ±165 310 (47,5)	2,00 (2,00, 4,00)	15,3 ±9,96 12,8 (71,4)	101 ±87,5 63,7 (163)	4320 ± 2860 3610 (71,9)	12,6 ±7,46 10,7 (71,9)	210 ±72,9 197 (42,9)	
	<i>P-значения из однофакторного дисперсионного анализа ANOVA логарифмически преобразованных данных, нормализованных по дозе (фактор = доза)</i>									
	Доза		0,556	-	-	-	0,915	-	-	-
	<i>Попарные значения p из 1-факторного дисперсионного анализа логарифмически преобразованных, нормализованных по дозе данных (фактор = доза)</i>									
	8 мг по сравнению с 12 мг		0,689	-	-	-	0,685	-	-	-
8 мг по сравнению с 16 мг		0,298	-	-	-	0,739	-	-	-	
12 мг по сравнению с 16 мг		0,334	-	-	-	0,942	-	-	-	

Примечание: Значения представлены в формате среднего ± SDи среднего геометрического (CV%), за исключением того, что T<sub>max</sub> указывается как медиана (диапазон).

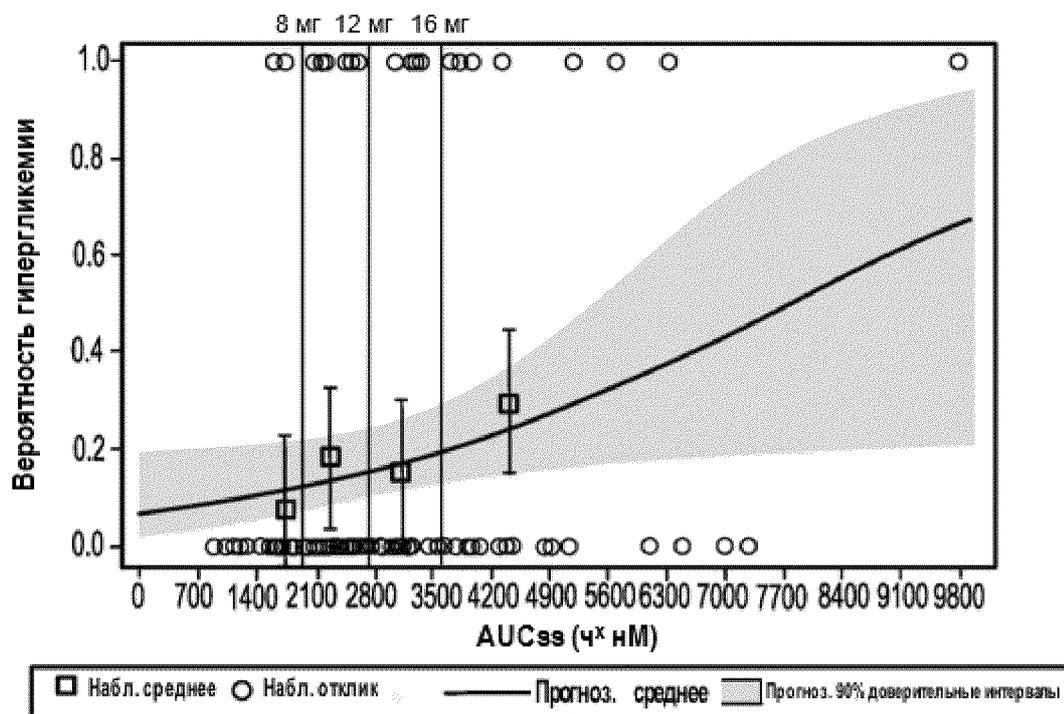
**Фиг. 5**



ФИГ. 6



ФИГ. 7



Фиг. 8