

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202390423 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.05.29

(22) Дата подачи заявки
2021.07.29

(51) Int. Cl. *A61K 31/4545* (2006.01)
A61K 47/55 (2017.01)
C07D 277/60 (2006.01)
C07D 417/14 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ МУТАНТНЫХ ЛИМФОМ

(31) 63/058,891; 63/109,854; 63/202,242
(32) 2020.07.30; 2020.11.04; 2021.06.02
(33) US
(86) PCT/US2021/071048
(87) WO 2022/027058 2022.02.03
(71) Заявитель:
КИМЕРА ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)

(72) Изобретатель:
Уокер Дункан (US)
(74) Представитель:
Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)

(57) В изобретении описаны способы лечения В-клеточных лимфом с MYD88-мутацией с использованием деструкторов IRAK4.

202390423

A1

A1

202390423

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ МУТАНТНЫХ ЛИМФОМ

5 Перекрестные ссылки на родственные заявки

В настоящем изобретении испрашивается приоритет на следующие заявки:
предварительная заявка США No. 63/202242, поданная 2 июня 2021,
предварительная заявка США No. 63/109854, поданная 4 ноября 2020,
предварительная заявка США No. 63/058891, поданная 30 июля 2020, каждая из
10 которых в полном объеме включена в настоящее описание в качестве ссылки.

Область техники

Настоящее описание относится к способам лечения В-клеточных MYD88-
мутантных лимфом с использованием деструкторов IRAK4.

Предпосылки создания настоящего изобретения

15 Деструкторы IRAKIMiD представляют собой подмножество деструкторов
IRAK4 с уникальным профилем, который сочетает в себе активность деградации
IRAK4 и имидных иммуномодуляторных лекарственных препаратов или IMiD,
для лечения В-клеточных MYD88-мутантных лимфом. Онкогенные MyD88
мутации, в большинстве случаев MyD88^{L265P}, распространены в нескольких
20 подмножествах В-клеточных лимфом. Прежде всего, предполагается, что MyD88
подвергается мутациям в приблизительно 30-40% случаев ABC-DLBCL, в 30-
70% случаев первичной лимфомы ЦНС, в 45-75% случаев первичных
экстранодальных лимфом и более 90% случаев макроглобулинемии
Вальденстрема. Присутствие MyD88 мутаций часто ассоциируется с низким
25 ответом на химиотерапию и сниженной общей выживаемостью по сравнению с
другими генетическими подтипами, что подтверждает необходимость в
разработке более эффективных способов терапии, направленных на MYD88-
мутантные лимфомы.

Лечение В-клеточных лимфом обычно включает химиотерапию первой
30 линии с использованием ритуксимаба. Несмотря на эффективность у многих
других пациентов, химиотерапия первой линии характеризуется значительно
сниженной выживаемостью в случае ABC-DLBCL. В дополнительных линиях
терапии недавно было одобрено несколько новых методов направленной

терапии, включая полатозумаб, бендамустин и гибридные Т клетки рецепторных антигенов. Хотя эти агенты обладают некоторой заметной активностью, у многих пациентов отсутствует ответная реакция на терапию второй линии или в последствии наблюдается рецидив после этих методов лечения, при этом
5 отсутствуют адекватные варианты лечения. Несколько направленных способов лечения, которые влияют на путь NFkB, такие как ингибитор Брутон-тирозинкиназы ибрутиниб, или леналидомид IMiD, характеризовались умеренной активностью отдельных агентов с низкой продолжительностью ответа в случае MYD88-мутантных лимфом.

10 В онкологии IRAK4 определяют как облигатный белок, принимающий участие в передаче сигналов MYD88, для которого активированная мутация хорошо охарактеризована при управлении онкогенезом, а препараты IMiD представляют собой класс лекарственных средств, которые подвергают деградации факторы транскрипции структурного мотива типа цинкового пальца,
15 такие как Icaros и Aiolos, что приводит к восстановлению пути передачи сигнала типа 1, который также имеет отношение к лимфоме. При сочетании активности IMiD с деградацией IRAK4 в одном агенте, который проявляет синергическую направленность как на путь IL-1/TLR, так и на путь IFN типа 1, а также проявляет активность в широком интервале против MYD88-мутантных В-
20 клеточных лимфом.

Существует необходимость в разработке дозировки и схем введения для деструкторов IRAKIMiD, которые проявляют синергетическую активность как при деградации субстрата IRAK4, так и IMiD для использования комплиментарного пути передачи сигналов, чтобы повысить эффективность
25 ингибиторов киназы IRAK4 и других способов терапии и обеспечить создание единого агента, проявляющего активность при MyD88-мутантной В-клеточной лимфоме.

Краткое описание вариантов осуществления настоящего изобретения

30 Было установлено, что определенные деструкторы IRAK4 являются пригодными для энтерального и парентерального введения пациенту при лечении MyD88-мутантной В-клеточной лимфомы. Соответственно, в одном объекте настоящего изобретения предлагается способ лечения MyD88-мутантной В-клеточной лимфомы у нуждающегося в таком лечении пациента,

включающий введение терапевтически эффективного количества соединения А или его фармацевтически приемлемой соли пациенту, где соединением А является N-(2-((1r,4r)-4-((6-(2-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)амино)этил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-ил)метил)циклогексил)-5-(2-гидроксипропан-2-ил)бензо[d]тиазол-6-ил)-6-(трифторметил)пиколинамид.

В одном объекте соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту в дозе до 300 мг, до 400 мг, до 900 мг или до 1600 мг. В других объектах соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе от приблизительно 300 мг до приблизительно 900 мг или от приблизительно 100 мг до приблизительно 300 мг. В некоторых случаях соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе от приблизительно 30 мг/м² до приблизительно 90 мг/м² или от приблизительно 10 мг/м² до приблизительно 40 мг/м².

В одном объекте соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту перорально. Пероральное введение соединения А пациенту может включать соединение А в составе растворов, суспензий, эмульсий, таблеток, пилюль, капсул, порошков или составов с замедленным высвобождением. В другом объекте соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту внутривенно. Внутривенное введение соединения А пациенту может включать соединение А в составе стерильных растворов для инъекций.

В одном объекте соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один раз в неделю (QW) или два раза в неделю (BIW). При дозировке раз в две недели введение соединения А или его фармацевтически приемлемой соли можно осуществлять в течение недели в день 1 и день 2 или в течение недели в день 1 и день 4. В некоторых вариантах соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один или два раза в неделю на 1-й и 2-й неделе в 3-недельном цикле введения. В некоторых вариантах соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один или два раза в неделю на 1-й и 2-й неделе в 4-недельном цикле введения. В некоторых вариантах соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один или два раза в неделю на 1-й и 2-й неделе в 4-недельном

цикле введения. В некоторых вариантах соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один или два раза в неделю на 1-й и 3-й неделе в 4-недельном цикле введения. В некоторых вариантах соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один или два раза в неделю в течение 1-3 недель в 4-недельном цикле введения.

В настоящем изобретении также предлагается фармацевтическая композиция, содержащая соединение А или его фармацевтически приемлемую соль и один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов или носителей. В некоторых объектах один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов или носителей включают один или более разбавителей, консервантов, связующих веществ, смазывающих веществ, дезинтегрирующих агентов, набухающих агентов, наполнителей или стабилизаторов. В других объектах один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов или носителей включают одно или более буферных веществ, поверхностно-активных веществ, диспергирующих агентов, эмульгаторов или модификаторов вязкости.

В дополнительных объектах В-клеточная лимфома с мутацией MYD88 выбрана из лимфом ABC DLBCL, первичных лимфом ЦНС, первичных экстранодальных лимфом, макроглобулинемии Вальденстрема, лимфомы Ходжкина, первичной кожной Т-клеточной лимфомы и хронического лимфоцитарного лейкоза. В некоторых вариантах пациент, которому вводят соединение А или его фармацевтически приемлемую соль для лечения В-клеточной лимфомы с мутацией MYD88, ранее проходил по меньшей мере один предварительный курс лечения. В некоторых вариантах пациент представляет собой человека.

Эти и другие объекты настоящего изобретения представляются очевидными для специалистов в данной области техники со ссылкой на следующее подробное описание. С этой целью в данном документе изложены различные публикации, в которых более подробно представлены определенная исходная информация и процедуры, и каждая из них в полном объеме включена в настоящий документ в качестве ссылки.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 представлено, что соединение А является проявляющим примерно равную эффективность деструктора IRAK4 и Ikaros, при этом

приблизительно 70% деградации как IRAK4, так и Ikaos связаны с клетками CTG IC₉₀. При кратковременном воздействии соединения А (72 ч) наблюдается гибель клеток *in vitro*, отличающуюся от IMiD.

5 На фиг. 2 представлено, что соединение А приводит к более эффективной регрессии, чем соединение В в ксенотрансплантатах опухоли OCI-Ly10. Соединение А характеризуется регрессией при дозе 3 мг/кг×21 день в опухоли OCI-Ly10, при более высоких дозах (≥ 10 мг/кг) наблюдается более быстрая и полная регрессия.

10 На фиг. 3 представлены минимально эффективные дозы для схем введения QW или BW соединения А в ксенотрансплантатах опухоли OCI-Ly10.

На фиг. 4 указано, что соединение А обеспечивает устойчивый фармакодинамический эффект (ФД) на опухоль OCI-Ly10, поддерживая направленное действие при прерывистой дозировке.

15 На фиг. 5 показаны результаты лимфопении, свидетельствующие о том, что изменения лимфоцитов согласуются с внутривенным и пероральным введением.

На фиг. 6 показано несколько клинических схем дозировки, подтвержденных доклиническими данными.

На фиг. 7 показан дизайн исследования по определению дозы.

20 На фиг. 8 представлены диаграммы рассеяния глубокой протеомики, свидетельствующие о деградации субстратов IRAK4 и IMiD в опухоли OCI-Ly10 с использованием соединения А.

На фиг. 9 показаны регрессии в моделях ксенотрансплантатов, полученных от пациентов (PDX) с мутацией MYD88, с использованием соединения А.

25 На фиг. 10 показано, что соединение А проявляет аддитивный эффект в комбинации с ибрутинибом в мутантных ксенотрансплантатах MYD88 OCI-Ly10.

На фиг. 11 показано, что соединение А проявляет сверхаддитивный эффект в комбинации с венетоклаксом в мутантных ксенотрансплантатах MYD88 OCI-Ly10.

30 На фиг. 12 показано, что соединение А проявляет сверхаддитивный эффект в комбинации с ритуксимабом в мутантных ксенотрансплантатах MYD88 OCI-Ly10 (верхний график), при включении в опухоли, которые рецидивировали после первоначального лечения R-CHOP (нижний график).

Подробное описание определенных вариантов осуществления настоящего изобретения

1. Общее описание определенных вариантов осуществления настоящего изобретения

5 Представленные в данном контексте деструкторы IRAK4 представляют собой гетеробифункциональные низкомолекулярные агенты, терапевтически направленные на лигазу CRBN E3 и IRAK4, опосредующие селективную деградацию протеинкиназы IRAK4, в также мишени IMiD, включая Ikaros и Aiolos. В MYD88-мутантной В-клеточной лимфоме, деградация компонента
10 миддосомы IRAK4, в комбинации с IMiD-опосредованной деградацией Ikaros и Aiolos и приводящие к регуляции с понижением активности IRF4 и активации интерферон-подобного ответа, будет синергетически индуцировать гибель клеток и противоопухолевый ответ. В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предлагается лечение взрослых пациентов с В-клеточной
15 лимфомой с MYD88-мутацией, которые ранее проходили по меньшей мере один курс лечения. Деструкторы IRAK4 по настоящему изобретению предназначены для перорального и внутривенного введения в дозах и по схемам, описанных в данном контексте.

В следующем раскрытии некоторые конкретные детали изложены для
20 обеспечения полного понимания различных вариантов осуществления настоящего изобретения. Однако специалисту в данной области техники представляется очевидным, что способы и применения, описанные в данном контексте, могут применяться на практике без этих подробностей. В других случаях хорошо известные структуры не показаны и не описаны подробно,
25 чтобы избежать излишнего усложнения описания вариантов осуществления. Если в контексте не описано иное, во всем нижеследующем описании и формуле изобретения слово «содержать» и его варианты, такие как «содержит» и «содержащий», следует рассматривать в открытом, широком смысле, то есть «включая, но не ограничиваясь только этим». Кроме того, приведенные в данном
30 контексте заголовки представлены только для удобства и не следует их применять для интерпретации объема или значения заявленного изобретения.

Ссылка в данном описании на «один вариант осуществления» или «вариант» означает, что конкретный признак, структура или характеристика,

описанные в связи с вариантом осуществления, включены по меньшей мере в один вариант осуществления. Таким образом, словосочетание «в одном варианте осуществления» или «в варианте», указанное в различных местах данного описания, не обязательно относится к одному и тому же варианту

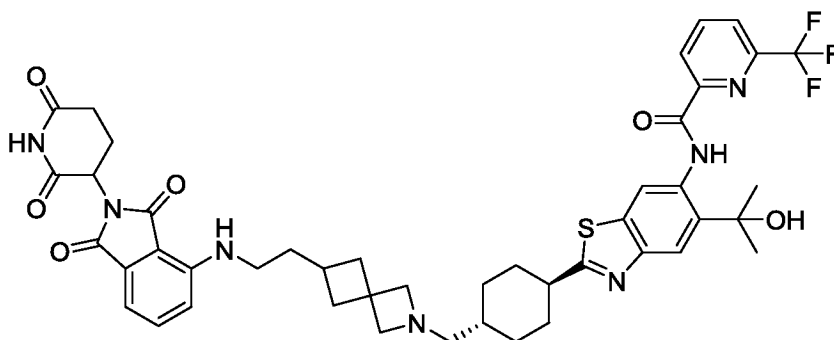
5 осуществления. Кроме того, конкретные признаки, структуры или характеристики можно объединить любым пригодным образом в одном или более вариантов осуществления. Более того, как используется в данном описании и прилагаемой формуле изобретения, формы в единственном числе включают ссылки во множественном числе, если в контексте явно не указано
10 иное. Следует также отметить, что термин «или» обычно используется в своем значении, включая «и/или», если в контексте явно не указано иное.

2. Определения

Использованные в данном описании и прилагаемой формуле изобретения следующие термины и сокращения, если контексте не указано иное, имеют
15 следующие значения.

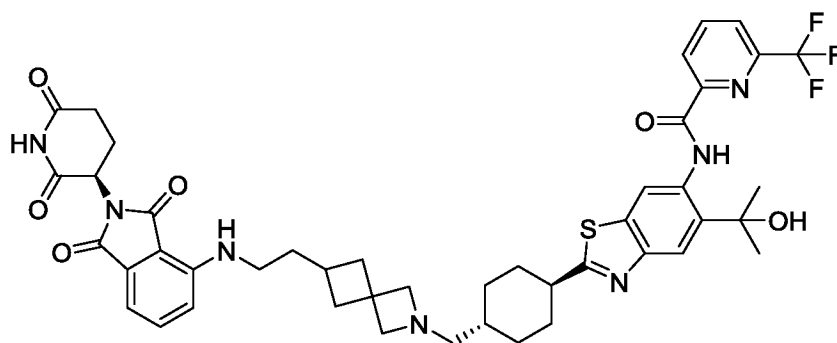
Используемый в данном контексте термин «приблизительно» относится к значению в пределах 20% от заданного значения. В некоторых вариантах осуществления термин «приблизительно» относится к значениям в пределах 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%,
20 4%, 3%, 2% или 1% от заданного значения.

Используемый в данном контексте термин соединение А относится к N-(2-
((1r,4r)-4-((6-(2-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1,3-диоксоизоиндолин-4-
ил)амино)этил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-ил)метил)циклогексил)-5-(2-
гидроксипропан-2-ил)бензо[d]тиазол-6-ил)-6-(трифторметил)пиколинамиду
25 формулы:



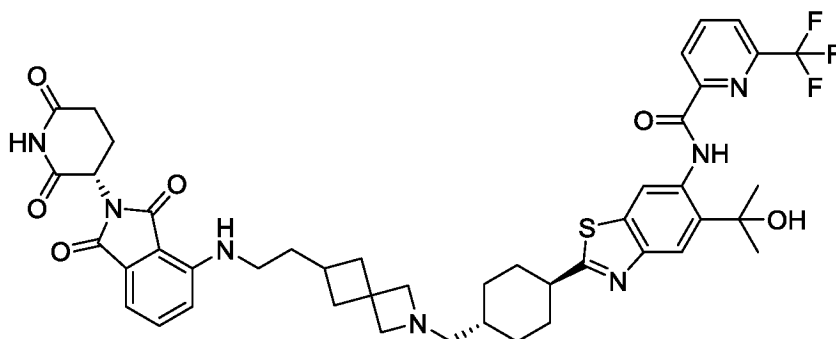
В некоторых вариантах соединение А или его фармацевтически приемлемая соль находится в аморфной форме. В некоторых вариантах соединение А или его фармацевтически приемлемая соль находится в кристаллической форме.

Использованный в данном контексте термин «соединение (R)-А» относится к N-(2-((1r,4r)-4-((6-(2-((2-((R)-2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)амино)этил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-ил)метил)циклогексил)-5-(2-гидроксипропан-2-ил)бензо[d]тиазол-6-ил)-6-(трифторметил)пиколинамиду формулы:



В некоторых вариантах соединение (R)-А или его фармацевтически приемлемая соль находится в аморфной форме. В некоторых вариантах соединение (R)-А или его фармацевтически приемлемая соль находится в кристаллической форме.

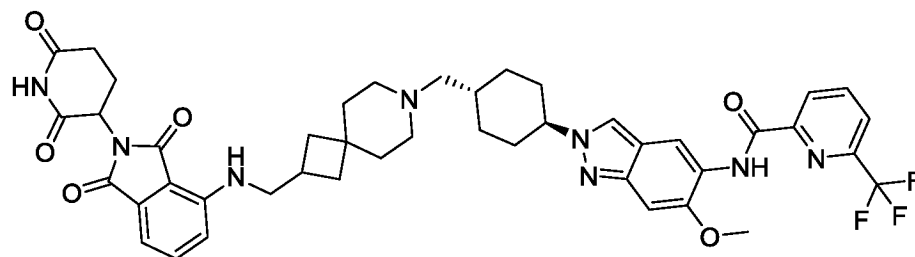
Использованный в данном контексте термин «соединение (S)-А» относится к N-(2-((1r,4r)-4-((6-(2-((2-((S)-2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)амино)этил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-ил)метил)циклогексил)-5-(2-гидроксипропан-2-ил)бензо[d]тиазол-6-ил)-6-(трифторметил)пиколинамиду формулы:



В некоторых вариантах соединение (S)-А или его фармацевтически приемлемая соль находится в аморфной форме. В некоторых вариантах

соединение (S)-A или его фармацевтически приемлемая соль находится в кристаллической форме.

Использованный в данном контексте термин «соединение В» относится к соединению формулы



или к его фармацевтически приемлемой соли.

Использованный в данном контексте термин «ингибитор» определен как соединение, которое связывается с киназой IRAK и/или ингибирует ее с измеряемой аффинностью. В некоторых вариантах ингибитор характеризуется константой IC_{50} и/или константой связывания приблизительно 50 мкМ, менее приблизительно 1 мкМ, менее приблизительно 500 нМ, менее приблизительно 100 нМ, менее приблизительно 10 нМ, или менее приблизительно 1 нМ.

Использованный в данном контексте термин «деструктор IRAK4» означает агент, который деградирует IRAK4, и другие мишени IMiD. Ранее были описаны различные деструкторы IRAK4, например, в заявках WO 2019/133531 и WO 2020/010227, содержание каждой из которых в полном объеме включено в настоящее описание в качестве ссылки. В некоторых вариантах деструктор IRAK4 характеризуется константой DC_{50} менее приблизительно 50 мкМ, менее приблизительно 1 мкМ, менее приблизительно 500 нМ, менее приблизительно 100 нМ, менее приблизительно 10 нМ или менее приблизительно 1 нМ.

Термин «пациент», использованный в данном контексте, означает животное, предпочтительно млекопитающее и наиболее предпочтительно человека.

Термин «мг/кг» означает миллиграмм лекарственного средства (например, соединения A) на килограмм массы тела субъекта, которому ввели лекарственное средство. Как указано в рекомендациях FDA, дозу в мг/кг для животного можно преобразовать в дозу $мг/м^2$ и в соответствующую эквивалентную дозу для человека (HED) при умножении или делении на соответствующий фактор, как указано в следующей таблице.

Виды	Для преобразования дозы для животного в мг/кг в дозу мг/м ² , умножить на k _m	Для преобразования дозы для животного в мг/кг в дозу HED ^a в мг/кг,	
		Разделить дозу для животного на	Умножить дозу для животного на
Человек	37	---	---
Ребенок (20 кг) ^б	25	---	---
Мышь	3	12,3	0,08
Хомяк	5	7,4	0,13
Крыса	6	6,2	0,16
Хорек	7	5,3	0,19
Морская свинка	8	4,6	0,22
Кролик	12	3,1	0,32
Собака	20	1,8	0,54
Приматы:			
Низшие обезьяны	12	3,1	0,32
Мармозетки ^в	6	6,2	0,16
Марышки	7	5,3	0,19
Павиан	20	1,8	0,54
Микросвинья	27	1,4	0,73
Минисвинья	35	1,1	0,95

а – масса тела человека предположительно 60 кг. Для неуказанных видов или для масс тела за пределами стандартных диапазонов массу тела HED рассчитывали по следующей формуле:

5 HED= доза для животного в мг/кг × (масса тела животного в кг/масса тела человека в кг)^{0,33}.

б – Эта величина k_m представлена только, чтобы отметить, что здоровые дети не могут быть волонтерами на стадии испытаний 1.

в – Например, яванский макак, макак-резус и медвежий макак

10

Используемый в данном контексте термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к тем солям, которые, с учетом обоснованного медицинского заключения, пригодны для использования при контактировании с тканями человека и низших животных без чрезмерной токсичности, раздражения, 15 аллергической реакции и т.п., и соответствуют надлежащему соотношению польза/риск. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области техники. Например, фармацевтически приемлемые соли подробно описаны в статье S.M.Berge и др. J. Pharmaceutical Sciences, 66, 1-19 (1977), включенной в настоящее описание в качестве ссылки. Фармацевтически 20 приемлемые соли соединений по настоящему изобретению включают соли, полученные из пригодных неорганических и органических кислот и оснований.

Типичными фармацевтически приемлемыми нетоксичными кислотно-аддитивными солями являются соли, образованные аминогруппой и неорганическими кислотами, такими как соляная кислота, бромистоводородная кислота, фосфорная кислота, серная кислота и хлорная кислота, или

- 5 органическими кислотами, такими как уксусная кислота, щавелевая кислота, малеиновая кислота, винная кислота, лимонная кислота, янтарная кислота или малоновая кислота, или с использованием других методов, известных в данной области техники, таких как ионный обмен. Другие фармацевтически приемлемые соли включают адипат, альгинат, аскорбат, аспартат, 10 бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, формиат, фумарат, глюкогептонат, глицерофосфат, глюконат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, соли иодистоводородной кислоты, 2-гидрокси-этансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, 15 малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотионат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, пара-толуолсульфонат, ундеканат, соли валерьяновой кислоты и т.п.

- Соли соответствующих оснований включают соли щелочных металлов, 20 щелочноземельных металлов, аммония и $N^+(C_{1-4}\text{алкил})_4$. Типичные соли щелочных металлов или щелочноземельных металлов включают соли натрия, лития, калия, кальция, магния и т.п. Другие фармацевтически приемлемые соли включают, при необходимости, нетоксичные катионы аммония, четвертичного аммония и амина, образованные с использованием противоионов, таких как 25 галогенид, гидроксид, карбоксилат, сульфат, фосфат, нитрат, низший алкилсульфонат и арилсульфонат.

- Если не указано иное, структуры, изображенные в настоящем документе, также включают все изомерные (например, энантиомерные, диастереомерные и геометрические (или конформационные)) формы структуры, например, R и S 30 конфигурации для каждого асимметричного центра, изомеры двойной связи Z и E и конформационные изомеры Z и E. Таким образом, отдельные стереохимические изомеры, а также энантиомерные, диастереомерные и геометрические (или конформационные) смеси данных соединений включены в

объем изобретения. Если не указано иное, все таутомерные формы соединений по изобретению включены в объем настоящего изобретения. Кроме того, если не указано иное, структуры, изображенные в настоящем документе, также включают соединения, которые отличаются только наличием одного или более атомов, обогащенных изотопами. Например, соединения, соответствующие настоящим структурам, включая замену водорода на дейтерий или тритий или замену углерода на ^{13}C - или ^{14}C -обогащенный углерод, включены в объем настоящего изобретения. Такие соединения можно использовать, например, в качестве аналитических агентов, в качестве зондов в биологических анализах или в качестве терапевтических средств в соответствии с настоящим изобретением.

Термин «фармацевтически приемлемый эксципиент или носитель» означает нетоксичный эксципиент или носитель, который не ингибирует фармакологическую активность соединения, в составе с которым он включен в композицию. Фармацевтически приемлемый эксципиент или носитель, которые можно использовать в композициях по настоящему изобретению, включают, но не ограничиваясь только ими, ионообменники, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, сывороточные белки, такие как человеческий сывороточный альбумин, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, смеси частичных глицеридов насыщенных растительных жирных кислот, воду, соли или электролиты, такие как сульфат протамина, гидрофосфат динатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный кремнезем, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, полиакрилаты, воски, блоксополимеры этилена и полиоксипропилена, полиэтиленгликоль и ланолин.

Термин «терапевтически эффективное количество», используемый в данном документе, относится к количеству деструктора IRAK4, которого достаточно для лечения указанного заболевания, нарушения или состояния или которое оказывает требуемое указанное действие на заболевание, нарушение или состояние, или один или более механизмов, лежащих в основе заболевания, расстройства или состояния у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, когда соединение А вводят для лечения В-клеточной лимфомы с MYD88-

мутацией, терапевтически эффективное количество относится к количеству соединения А, которое при введении субъекту оказывает лечебное действие или облегчает течение лимфомы у субъекта или проявляет детектируемый терапевтический эффект у субъекта, который приводит к частичной или полной регрессии опухоли.

Используемые в данном контексте термины «лечение», «лечить» и «излечивать» относятся к обращению, облегчению, снижению степени тяжести, замедлению развития или ингибированию прогрессирования заболевания или нарушения, или одного или более его симптомов, как описано в данном контексте. В некоторых вариантах лечение можно проводить после развития одного или более симптомов. В других вариантах лечение можно проводить при отсутствии симптомов. Например, лечение можно назначить восприимчивому индивидууму до появления симптомов (например, с учетом наличия симптомов в анамнезе и/или с учетом генетических или других факторов восприимчивости). Лечение также можно продолжать после исчезновения симптомов, например, чтобы предотвратить или замедлить их рецидив.

3. Описание типичных вариантов осуществления

В одном объекте настоящего изобретения предлагается способ лечения В-клеточной лимфомы с MYD88-мутацией у нуждающегося в таком лечении пациента, включающий введение терапевтически эффективного количества деструктора IRAK4 (например, соединения А) или его фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение до 1600 мг деструктора IRAK4 (например, соединения А), или его фармацевтически приемлемой соли в виде однократной или разделенной дозы.

Фармацевтически приемлемые композиции

В одном варианте осуществления изобретения предлагается композиция, содержащая деструктор IRAK4 по настоящему изобретению (например, соединение А) или его фармацевтически приемлемое производное и фармацевтически приемлемый эксципиент или носитель. Количество деструктора IRAK4 в композициях по настоящему изобретению составляет величину, при которой наблюдается эффективность при детектируемых деградации и/или ингибировании протеинкиназы IRAK4 или ее мутанта у пациента. В некоторых вариантах композиция по настоящему изобретению

представляет собой состав, предназначенный для введения пациенту, нуждающемуся в такой композиции. В некоторых вариантах композиция по настоящему изобретению предназначена для перорального введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления композиция по данному изобретению предназначена для внутривенного введения пациенту.

Наиболее предпочтительно фармацевтически приемлемые композиции по настоящему изобретению представляют собой состав, предназначенный для введения пациенту для перорального введения. Такие составы можно вводить одновременно с едой или без нее. В некоторых вариантах фармацевтически приемлемые композиции по настоящему изобретению вводят без еды. В других вариантах фармацевтически приемлемые композиции по настоящему изобретению вводят одновременно с едой.

Количество соединений по настоящему изобретению, которое можно комбинировать с материалами-носителями для получения композиции в виде единой лекарственной формы, варьируется в зависимости от индивидуума, который проходит курс лечения, и конкретного способа введения. В предпочтительных вариантах предлагаемые композиции получают в виде составов, чтобы пациенту, которому вводят эти композиции, можно было вводить дозу соединения от 0,01 до 100 мг/кг массы тела/день.

Также следует понимать, что конкретная доза и схема лечения для любого конкретного пациента зависит от множества факторов, включая активность конкретного используемого соединения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, диету, время введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных средств, заключения лечащего врача и тяжести конкретного заболевания, которое подвергается лечению. Количество соединения по настоящему изобретению в композиции также зависит от конкретного деструктора IRAK4 в составе композиции.

Композиции

Лекарственные формы, раскрытые в настоящем документе, включают фармацевтически приемлемые соли деструкторов IRAK4 (например, соединение А). В некоторых вариантах осуществления лекарственные формы можно получить в виде составов для энтерального или парентерального введения. Деструктор IRAK4 можно комбинировать с одним или более фармацевтически

приемлемых носителей, которые считаются безопасными и эффективными, для формирования стандартной лекарственной формы, как описано в настоящем документе, и можно вводить индивидууму, не вызывая нежелательных биологических побочных эффектов или нежелательных взаимодействий.

5 Эти лекарственные формы можно получить в форме растворов, суспензий, эмульсий, таблеток, пилюль, капсул, порошков, составов с замедленным высвобождением и т.п.

10 В одном предпочтительном варианте осуществления лекарственная форма представлена в форме таблетки, включающей деструкторы IRAK4 (например, соединение А). Лекарственную форму вводят субъекту, нуждающемуся в таком лечении, в течение периода времени, эффективного для улучшения состояния пациента (например, В-клеточной лимфомы с мутацией MYD88).

Экспципиенты и носители

15 Фармацевтические носители могут представлять собой стерильные жидкости, такие как вода и масла, включая масла нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и т.п. Солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также можно использовать в качестве жидких носителей, прежде всего для растворов для инъекций.

20 Пригодные фармацевтические экспципиенты включают крахмал, глюкозу, сахарозу, желатин, лактозу, солод, рис, муку, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, глицерин, пропиленгликоль, воду, этанол и т.п. Фармацевтическая композиция может также содержать смачивающие или эмульгирующие агенты, или суспендирующие
25 агенты/разбавители или буферные вещества для регуляции pH, или агенты для модификации или поддержания скорости высвобождения описанных в данном контексте солей, все из которых раскрыты далее в настоящем документе.

Введение и дозировка

30 Как описано в настоящем документе, деструктор IRAK4, предлагаемый в настоящем документе, вводят парентеральным и энтеральным способами. В некоторых вариантах осуществления деструктор IRAK4 (например, соединение А) или его фармацевтически приемлемую соль вводят внутривенно. В некоторых вариантах деструктор IRAK4 (например, соединение А) или его

фармацевтически приемлемую соль вводят с использованием внутривенной инъекции. В некоторых вариантах деструктор IRAK4 (например, соединение А) или его фармацевтически приемлемую соль вводят с использованием внутривенного вливания.

5 Как описано в настоящем документе, деструктор IRAK4 (например, соединение А) или его фармацевтически приемлемую соль, вводят энтеральным способом. В некоторых вариантах деструкторы IRAK (например, соединение А) или его фармацевтически приемлемую соль вводят в аморфной или кристаллической форме (например, спрессованные в пилюли или капсулы). В
10 некоторых вариантах деструктор IRAK4 (например, соединение А) или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде лиофилизированного порошка.

 В некоторых вариантах способ изобретения включает пероральное введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей деструктор IRAK. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция
15 представляет собой твердую фармацевтическую композицию. В некоторых вариантах твердая фармацевтическая композиция представляет собой порошок. В некоторых вариантах фармацевтическая композиция представляет собой лиофилизированный порошок. В некоторых вариантах твердая фармацевтическая композиция представляет собой гранулы. В некоторых
20 вариантах твердая фармацевтическая композиция по изобретению представляет собой таблетки. В некоторых вариантах твердая фармацевтическая композиция представляет собой капсулы. В некоторых вариантах твердая фармацевтическая композиция представляет собой пилюли. В некоторых вариантах твердая фармацевтическая композиция представляет собой суспензию. В некоторых
25 вариантах твердая фармацевтическая композиция представляет собой эмульсии. В некоторых вариантах твердая фармацевтическая композиция представляет собой растворы.

 В некоторых вариантах способы и применения, описанные в настоящем документе, такие как способ или применение для лечения В-клеточной лимфомы
30 с MYD88-мутацией у пациента, нуждающегося в таком лечении, осуществляют при введении (например, перорально или внутривенно), терапевтически эффективного количества деструктора IRAK (например, соединение А), в составе одной или более лекарственных форм в дозе от приблизительно 10 мг до

приблизительно 1600 мг/лекарственная форма. В некоторых вариантах способ может включать введение (например, перорально или внутривенно) в виде однократной или многократной лекарственных форм в интервале от приблизительно 10 мг до приблизительно 1600 мг/лекарственная форма

5 например, приблизительно 50 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 450 мг, 500 мг, 550 мг, 600 мг, 650 мг, 700 мг, 750 мг, 800 мг, 850 мг, 900 мг, 950 мг или приблизительно 1000 мг. Например, таблетка для энтерального введения может включать 100 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 450 мг или 500 мг/лекарственная форма деструктора IRAK4 (например, 10 соединение А) или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту внутривенно в дозе до 300 мг. В некоторых вариантах осуществления соединения А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту внутривенно в дозе до 400 мг. В некоторых вариантах 15 соединения А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту перорально в дозе до 900 мг. В некоторых вариантах соединения А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту перорально в дозе до 1600 мг. В некоторых вариантах соединения А или его фармацевтически приемлемую соль вводят перорально в дозе от примерно 300 мг до примерно 900 мг. В 20 некоторых вариантах соединения А или его фармацевтически приемлемую соль вводят внутривенно в дозе от приблизительно 100 мг до приблизительно 400 мг.

В некоторых вариантах предлагается фармацевтическая композиция, где фармацевтическая композиция содержит от 50 мг до приблизительно 600 мг соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и один или более 25 фармацевтически приемлемых эксципиентов или носителей. В некоторых вариантах осуществления предлагается фармацевтическая композиция, где фармацевтическая композиция содержит от 100 мг до приблизительно 400 мг соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и один или более фармацевтически приемлемых наполнителей или носителей. В некоторых 30 вариантах осуществления предлагается фармацевтическая композиция, где фармацевтическая композиция содержит от 300 мг до приблизительно 900 мг соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и один или более фармацевтически приемлемых наполнителей или носителей.

В некоторых вариантах (например, как описано в примере 6) соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или его фармацевтическую композицию вводят мышам в дозе приблизительно до 60 мг/кг для перорального введения, что соответствует приблизительно 180 мг/м² в соответствии с руководством FDA, как описано выше. Соответственно, в некоторых вариантах соединение А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят перорально пациенту в дозе приблизительно до 180 мг/м². В некоторых вариантах соединение А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят перорально пациенту в дозе до приблизительно 135 мг/м², или до приблизительно 90 мг/м², или до приблизительно 60 мг/м² или до приблизительно 30 мг/м². В некоторых вариантах соединение А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят перорально пациенту в дозе от приблизительно 10 мг/м² до приблизительно 30 мг/м², или приблизительно от 10 мг/м² или от приблизительно 60 мг/м², или от приблизительно 30 мг/м² до приблизительно 60 мг/м², или от приблизительно 30 мг/м² от 10 мг/м² до приблизительно 90 мг/м², или до приблизительно 90 мг/м², или приблизительно от 60 мг/м² до приблизительно 90 мг/м², или приблизительно от 10 мг/м² до приблизительно 135 мг/м², или приблизительно от 30 мг/м² приблизительно до 135 мг/м², или приблизительно от 60 мг/м² до приблизительно 135 мг/м², или приблизительно от 90 мг/м² до приблизительно 135 мг/м², или приблизительно от 10 мг/м² до приблизительно 180 мг/м², или приблизительно от 30 мг/м² до приблизительно 180 мг/м², или приблизительно от 60 мг/м² до приблизительно 180 мг/м², или приблизительно от 90 мг/м² до приблизительно 180 мг/м², или приблизительно от 135 мг/м² или приблизительно от 180 мг/м². В некоторых вариантах соединение А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят перорально пациенту в дозе приблизительно 180 мг/м², приблизительно 165 мг/м², приблизительно 150 мг/м², приблизительно 135 мг/м², приблизительно 120 мг/м², приблизительно 105 мг/м², приблизительно 90 мг/м², приблизительно 75 мг/м², приблизительно 60 мг/м², приблизительно 45 мг/м², приблизительно 30 мг/м², или приблизительно 15 мг/м².

В некоторых вариантах (например, как описано в примере 6) соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или его фармацевтическую композицию вводят мышам внутривенно в дозе приблизительно до 12 мг/кг, что соответствует приблизительно 36 мг/м² в соответствии с руководством FDA, как описано выше. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления соединения А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят пациенту внутривенно в дозе приблизительно до 36 мг/м². В некоторых вариантах соединения А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят внутривенно пациенту в дозе до приблизительно 27 мг/м², или до приблизительно 18 мг/м², или до приблизительно 9 мг/м². В некоторых вариантах соединения А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят внутривенно пациенту в дозе от приблизительно 3 мг/м² до приблизительно 9 мг/м², или от приблизительно 3 мг/м² до приблизительно 18 мг/м², или от приблизительно 9 мг/м² до приблизительно 18 мг/м², или от приблизительно 3 мг/м² до приблизительно 27 мг/м², или от приблизительно 9 мг/м² до приблизительно 27 мг/м², или от приблизительно 18 мг/м² до приблизительно 27 мг/м², или от приблизительно 3 мг/м² до приблизительно 36 мг/м², или от приблизительно 9 мг/м² до приблизительно 36 мг/м², или от приблизительно 18 мг/м² до приблизительно 36 мг/м². В некоторых вариантах соединения А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят внутривенно пациенту в дозе приблизительно 36 мг/м², приблизительно 33 мг/м², приблизительно 30 мг/м², приблизительно 27 мг/м², приблизительно 24 мг/м², приблизительно 21 мг/м², приблизительно 18 мг/м², приблизительно 15 мг/м², приблизительно 12 мг/м², приблизительно 9 мг/м², приблизительно 6 мг/м², или приблизительно 3 мг/м².

В некоторых вариантах (например, как описано в примере 7) соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или его фармацевтическую композицию вводят обезьянам перорально в дозе приблизительно до 100 мг/кг, что соответствует приблизительно 35 мг/кг эквивалентной дозы для человека (HED) в соответствии с руководством FDA, как описано выше. Соответственно, в некоторых вариантах соединения А, или его фармацевтически приемлемую

соль, или его фармацевтическую композицию вводят перорально пациенту в дозе приблизительно до 35 мг/кг. В некоторых вариантах соединение А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят перорально пациенту в дозе до приблизительно 26 мг/кг, или до

5 приблизительно 18 мг/кг, или до приблизительно 9 мг/кг. В некоторых вариантах соединение А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят перорально пациенту в дозе от приблизительно 9 мг/кг до приблизительно 18 мг/кг, или от приблизительно 9 мг/кг до приблизительно 26 мг/кг, или от приблизительно 18 мг/кг до

10 приблизительно 26 мг/кг, или от приблизительно 9 мг/кг до приблизительно 35 мг/кг, или от приблизительно 18 мг/кг до приблизительно 35 мг/кг. В некоторых вариантах соединение А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят перорально пациенту в дозе

15 приблизительно 35 мг/кг, приблизительно 30 мг/кг, приблизительно 30 мг/кг, приблизительно 25 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 15 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, или приблизительно 5 мг/кг.

В некоторых вариантах (например, как описано в примере 7) соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или его фармацевтическую

20 композицию вводят обезьянам перорально в дозе приблизительно до 100 мг/кг, что соответствует приблизительно 1200 мг/м² в соответствии с руководством FDA, как описано выше. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления соединение А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят пациенту внутривенно в дозе

25 приблизительно до 1200 мг/м². В некоторых вариантах соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или его фармацевтическую композицию вводят пациенту перорально в дозе приблизительно до приблизительно 900 мг/м², или до приблизительно 600 мг/м², или до приблизительно 300 мг/м², или до приблизительно 150 мг/м². В некоторых вариантах соединение А или его

30 фармацевтически приемлемую соль или его фармацевтическую композицию вводят пациенту перорально в дозе от приблизительно 150 мг/м² до приблизительно 300 мг/м², или от приблизительно 150 мг/м² до приблизительно 600 мг/м², или от приблизительно 300 мг/м² до приблизительно 600 мг/м², или от

приблизительно 150 мг/м² до приблизительно 900 мг/м², или от приблизительно 300 мг/м² до приблизительно 900 мг/м², или от приблизительно 600 мг/м² до приблизительно 900 мг/м², или от приблизительно 150 мг/м² до приблизительно 1200 мг/м², или от приблизительно 300 мг/м² до приблизительно 1200 мг/м², или от приблизительно 600 мг/м² до приблизительно 1200 мг/м², или от приблизительно 900 мг/м² до приблизительно 1200 мг/м². В некоторых вариантах соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или его фармацевтическую композицию вводят пациенту перорально в дозе приблизительно 150 мг/м², приблизительно 200 мг/м², приблизительно 250 мг/м², приблизительно 300 мг/м², приблизительно 350 мг/м², приблизительно 400 мг/м², приблизительно 450 мг/м², приблизительно 500 мг/м², приблизительно 550 мг/м², приблизительно 600 мг/м², приблизительно 650 мг/м², приблизительно 700 мг/м², приблизительно 750 мг/м², приблизительно 800 мг/м², приблизительно 850 мг/м², приблизительно 900 мг/м², приблизительно 950 мг/м², приблизительно 1000 мг/м², приблизительно 1050 мг/м², приблизительно 1100 мг/м², приблизительно 1150 мг/м², или приблизительно 1200 мг/м².

В некоторых вариантах (например, как описано в примере 7) соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или его фармацевтическую композицию вводят обезьянам внутривенно в дозе приблизительно до 20 мг/кг, что соответствует приблизительно 10 мг/кг эквивалентной дозы для человека (HED) в соответствии с руководством FDA, как описано выше. Соответственно, в некоторых вариантах соединение А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят пациенту внутривенно в дозе приблизительно до 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления соединения А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят внутривенно пациенту в дозе до приблизительно 8 мг/кг, до приблизительно 6 мг/кг, до приблизительно 5 мг/кг, до приблизительно 4 мг/кг, или до приблизительно 2 мг/кг. В некоторых вариантах соединение А, или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводят внутривенно пациенту в дозе от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 6 мг/кг, от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 6 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 8 мг/кг, от приблизительно

4 мг/кг до приблизительно 8 мг/кг, от приблизительно 6 мг/кг до
приблизительно 8 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг,
от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 6
мг/кг до приблизительно 10 мг/кг или от приблизительно 8 мг/кг до
5 приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах соединение А, или его
фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию
вводят внутривенно пациенту в дозе приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 3
мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 6 мг/кг,
приблизительно 7 мг/кг, приблизительно 8 мг/кг, приблизительно 9 мг/кг, или
10 приблизительно 10 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления (например, как описано в примере
7) соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или его
фармацевтическую композицию вводят обезьянам внутривенно в дозе
приблизительно до 20 мг/кг, что соответствует приблизительно 240 мг/м² в
15 соответствии с руководством FDA, как описано выше. Соответственно, в
некоторых вариантах соединение А, или его фармацевтически приемлемую соль,
или его фармацевтическую композицию вводят пациенту внутривенно в дозе
приблизительно до 240 мг/м². В некоторых вариантах соединение А или его
фармацевтически приемлемую соль или его фармацевтическую композицию
20 вводят пациенту внутривенно в дозе до приблизительно 180 мг/м², до
приблизительно 120 мг/м², или до приблизительно 60 мг/м². В некоторых
вариантах соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или его
фармацевтическую композицию вводят пациенту в дозе от приблизительно 60
мг/м² до приблизительно 120 мг/м², от приблизительно 60 мг/м² до
25 приблизительно 180 мг/м², от приблизительно 120 мг/м² до приблизительно 180
мг/м², от приблизительно 60 мг/м² до приблизительно 240 мг/м², от
приблизительно 120 мг/м² до приблизительно 240 мг/м², или от приблизительно
180 мг/м² до приблизительно 240 мг/м². В некоторых вариантах соединение А
или его фармацевтически приемлемую соль или его фармацевтическую
30 композицию вводят пациенту внутривенно в дозе приблизительно 240 мг/м²,
приблизительно 220 мг/м², приблизительно 200 мг/м², приблизительно 180 мг/м²,
приблизительно 160 мг/м², приблизительно 140 мг/м², приблизительно 120 мг/м²,
приблизительно 100 мг/м², приблизительно 80 мг/м², приблизительно 60 мг/м²,

приблизительно 40 мг/м², приблизительно 20 мг/м², или приблизительно 10 мг/м².

В некоторых вариантах соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или его фармацевтическую композицию вводят перорально или внутривенно в дозировке для достижения одного или более фармакокинетических показателей, как описано в разделе Примеры, например, показателей AUC, перечисленных в табл. 11 и табл. 12 в примере 7.

Схема дозирования

По данным доклинических испытаний, описанных в данном контексте, деструктор IRAK4 (например, соединение А) или его фармацевтически приемлемую соль или его фармацевтическую композицию вводят пациенту по схеме дозирования, пригодной для достижения требуемого эффекта регрессии опухоли с минимальными побочными эффектами. В некоторых вариантах деструктор IRAK или его фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней. В некоторых вариантах фармацевтическую композицию по изобретению вводят пациенту два раза в неделю (BIW).

Двухнедельные дозы можно вводить с интервалом в несколько часов (например, 1, 3, 6, 12 ч) или дней (например, 1, 2, 3 или 4 дня). В некоторых вариантах дозы один раз в две недели вводят в день 1 и день 2. В некоторых вариантах дозы один раз в две недели вводят в день 1 и день 4. В некоторых вариантах фармацевтическую композицию по изобретению вводят пациенту еженедельно (QW).

Также было установлено, что соединение А характеризуется высокoeffективным воздействием на ткани по сравнению с плазмой и устойчивым эффектом ФД после введения однократной дозы, и что опухоль характеризуется относительно более медленным выведением по сравнению с селезенкой, которая характеризуется C_L, подобной плазме (см., например, пример 6 и фиг.4). Соответственно, в некоторых вариантах соединение А или его фармацевтически приемлемую соль, или его фармацевтическую композицию вводимую пациенту перорально или внутривенно, вводят один раз каждые 1, 2, 3 или 4 недели или один раз каждые 7, 10, 14, 17, 21, 24 или 28 дней.

В некоторых вариантах осуществления деструктор IRAK4 (например, соединение А), или его фармацевтически приемлемую соль вводят два раза в

течение недели 1 и недели 2 в ходе 4-х недельного цикла введения. В некоторых вариантах деструктор IRAK4 (например, соединение А), или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту два раза в неделю в течение недель 1-3 в ходе 4-х недельного цикла введения.

5 В некоторых вариантах схема введения представляет собой любую из схем, указанных на фиг. 5. В некоторых вариантах схема введения представляет собой любую из схем, указанных на фиг. 6.

10 В некоторых вариантах продолжительность внутривенного вливания фармацевтической композиции по изобретению составляет приблизительно 5-30 мин. В некоторых вариантах продолжительность внутривенного вливания фармацевтической композиции по изобретению составляет приблизительно 30-90 мин. В некоторых вариантах продолжительность внутривенного вливания фармацевтической композиции по изобретению составляет приблизительно 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 или 90 мин. В
15 некоторых вариантах продолжительность внутривенного вливания фармацевтической композиции по изобретению составляет приблизительно 2, 2,5, 3, 3,5 или 4 ч.

В некоторых вариантах фармацевтическую композицию по изобретению вводят внутривенно два раза в неделю в дозе от приблизительно 10 мг/м^2 до
20 приблизительно 40 мг/м^2 . В некоторых вариантах фармацевтическую композицию вводят перорально два раза в неделю в дозе от приблизительно 30 мг/м^2 до приблизительно 90 мг/м^2 .

В некоторых вариантах соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или его фармацевтическую композицию вводят перорально
25 или внутривенно по схеме дозировки для достижения одного или более фармакокинетических свойств, как описано в разделе Примеры, например, показателя AUC, как указано в таблицах 11 и 12 в примере 7. Состав фармацевтических композиций

Введение деструкторов IRAK4 по настоящему изобретению можно
30 осуществлять любым пригодным способом, при котором достигается концентрация лекарственного средства, которая в сочетании с другим компонентом способна улучшить состояние пациента (например, MYD88-мутантная лимфома).

Хотя возможно введение активных ингредиентов комбинации в виде чистых химических реагентов, предпочтительно представлять их в виде фармацевтической композиции, также называемой в данном контексте фармацевтическим составом. Возможные композиции включают композиции, пригодные для перорального, ректального, местного (включая чрескожное, трансбуккальное и подъязычное) или парентерального (включая подкожное, внутримышечное, внутривенное и внутрикожное) введения.

В большинстве случаев эти фармацевтические составы назначают пациенту в виде «упаковок для пациентов», содержащих несколько лекарственных форм или другие средства для введения отмеренных стандартных доз для применения в течение определенного периода лечения в одной упаковке, обычно в блистерной упаковке. Преимущество упаковки для пациентов перед традиционными рецептами заключается в том, что когда фармацевт отделяет фармацевтические препараты для пациента от препаратов для массового потребления, у пациента всегда есть доступ к вкладышу, содержащемуся в упаковке для пациента, который обычно отсутствует в традиционных рецептах. Было установлено, что включение вкладыша в упаковку улучшает соблюдение пациентом инструкций врача. Таким образом, в изобретении дополнительно предлагается фармацевтический состав, как описано выше, в сочетании с упаковочным материалом, пригодным для указанных составов. В такой упаковке для пациента предполагаемое использование состава для комбинированного лечения можно определить с использованием инструкций, условий, положений, приспособлений и/или других средств, которые предназначены для упрощения использования состава наиболее пригодным образом для лечения. Такие меры делают упаковку для пациента особенно подходящей и адаптированной для применения при лечении комбинацией по настоящему изобретению.

Лекарственное средство может содержаться в любом пригодном количестве в любом пригодном веществе-носителе и может присутствовать в количестве 1-99 мас.% в расчете на общую массу композиции. Композицию можно представить в лекарственной форме, пригодной для перорального, парентерального (например, внутривенного, внутримышечного), ректального, кожного, назального, вагинального, ингаляционного, кожного (пластырь) или глазного пути введения. Таким образом, композицию можно представить в форме,

например, таблеток, капсул, пилюль, порошков, гранулятов, суспензий, эмульсий, растворов, гелей, в том числе гидрогелей, паст, мазей, кремов, пластырей, леденцов, устройств осмотической доставки, суппозиторий, клизм, инъекционных препаратов, имплантатов, спреев или аэрозолей.

5 Фармацевтические композиции можно перерабатывать в составы в соответствии с общепринятой фармацевтической практикой (см., например, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20-е изд.), под ред. A.R. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, (2000), и Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, под ред. J. Swarbrick и J. C. Boylan, (1988-1999), Марсель Деккер, 10 Нью-Йорк).

Фармацевтические композиции по изобретению можно включать в состав таким образом, чтобы активное лекарственное средство высвобождалось в основном сразу после введения или в любое предварительно определенные время или период времени после введения.

15 Составы с контролируемым высвобождением включают (i) составы, которые создают практически постоянную концентрацию лекарственного средства в организме в течение продолжительного периода времени; (ii) составы, которые после предварительно определенного времени задержки создают в основном постоянную концентрацию лекарственного средства в 20 организме в течение продолжительного периода времени; (iii) составы, которые поддерживают действие лекарственного средства в течение предварительно определенного периода времени за счет поддержания относительно постоянного эффективного уровня лекарственного средства в организме с сопутствующей минимизацией нежелательных побочных эффектов, связанных с колебаниями 25 уровня активного лекарственного вещества в плазме; (iv) составы, которые локализуют действие лекарственного средства, например, за счет пространственного размещения композиции с контролируемым высвобождением в участке, соседнем с больной тканью или органом или внутри них, и (v) составы, которые обеспечивают направленное действие лекарственного средства с использованием носителей или химических производных для доставки 30 лекарственного средства в конкретный тип клеток-мишеней.

Введение лекарственных средств в виде лекарственной формы с контролируемым высвобождением прежде всего предпочтительно в случаях,

когда лекарственное средство в составе комбинации характеризуется следующими свойствами: (i) узкий терапевтический индекс (т.е. различие между концентрацией в плазме, которая приводит к отрицательным побочным эффектам или токсическим реакциям, и концентрацией в плазме, которая обеспечивает терапевтический эффект, невелика, в основном при этом терапевтический индекс, TI, определяется как отношение медианной летальной дозы (LD_{50}) к медианной эффективной дозе (ED_{50})); (ii) узкая поверхность всасывания в желудочно-кишечном тракте; или (iii) очень короткий биологический период полувыведения, так что требуется частое введение в течение дня для поддержания уровня в плазме на терапевтическом уровне.

Для обеспечения контролируемого высвобождения, при котором скорость высвобождения превышает скорость метаболизма рассматриваемого лекарственного средства, можно использовать любую из ряда стратегий.

Контролируемое высвобождение можно обеспечить при соответствующем выборе различных параметров состава и ингредиентов, включая, например, различные типы композиций и покрытий с контролируемым высвобождением. Таким образом, лекарственное средство получают в смеси с соответствующими вспомогательными эксципиентами в виде фармацевтической композиции, которая при введении высвобождает лекарственное средство контролируемым образом (композиции в виде таблетки или капсулы для однократного или многократного введения, масляных растворов, суспензий, эмульсий, микрокапсул, микросфер, наночастиц, пластырей и липосом).

Твердые лекарственные формы для энтерального применения

Пероральные составы могут включать стандартные носители, такие как следующие реагенты фармацевтической степени чистоты: маннит, лактоза, натриевая соль сахараина, крахмал, стеарат магния, целлюлоза, карбонат магния и т. д. Такие составы содержат терапевтически эффективное количество указанных солей в смеси с пригодным количеством носителя для обеспечения надлежащей формы для пациента в зависимости от используемого способа введения.

Пригодные пероральные лекарственные формы включают таблетки, капсулы, растворы, суспензии, сиропы и пастилки. Таблетки можно изготовить с использованием методов прессования или формования, хорошо известных в

данной области техники. Желатиновые или нежелатиновые капсулы можно изготовить в виде твердых или мягких оболочек капсул, в которые можно инкапсулировать жидкие, твердые и полутвердые наполнители с использованием методов, хорошо известных в данной области техники. Предпочтительным

5 составом является таблетка, предпочтительно включающая маннит в соотношении маннит/активный агент 1:1, однако соотношение активный агент/маннит может составлять от 2:1 до 1:2. Концентрация маннита является эффективной для стабилизации состава. Например, маннит может составлять от 40 до 70% в расчете на массу состава, например, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%
10 и 70%. Предусмотрены также значения, промежуточные по отношению к конкретно раскрытым, например, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 69 и 69%. Предпочтительные составы включают микрокристаллическую целлюлозу в концентрации от 10 до 30 мас.%, предпочтительно от 15 до 26 мас.%.

Составы можно получать с использованием фармацевтически приемлемого
15 носителя. Как в основном используется в данном контексте, «носитель» включает, но не ограничиваясь только ими, все компоненты композиции покрытия, которые могут включать пластификаторы, пигменты, красители, стабилизаторы и глиданты. Примеры пригодных материалов покрытия включают, но не ограничиваясь только ими, полимеры целлюлозы, такие как
20 фталат ацетата целлюлозы, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы и ацетатсукцинат гидроксипропилметилцеллюлозы. фталат поливинилацетата, полимеры и сополимеры акриловой кислоты и метакриловые смолы, выпускаемые под торговой маркой EUDRAGIT® (Roth Pharma, Вестерштадт,
25 Германия), зеин, шеллак и полисахариды.

Кроме того, материал покрытия может содержать обычные носители, такие как пластификаторы, пигменты, красители, глиданты, стабилизирующие агенты, порообразователи и поверхностно-активные вещества.

«Разбавители», также называемые «наполнителями», обычно необходимы
30 для увеличения объема твердой лекарственной формы, и предназначены для обеспечения практического размера для прессования таблеток или образования микросфер и гранул. Пригодные разбавители включают, но не ограничиваясь только ими, дигидрат дикальцийфосфата, сульфат кальция, лактозу, сахарозу,

маннит, сорбит, целлюлозу, микрокристаллическую целлюлозу, каолин, хлорид натрия, сухой крахмал, гидролизованные крахмалы, предварительно желатинизированный крахмал, диоксид кремния, оксид титана, алюмосиликат магния и сахарную пудру.

5 «Связующие вещества» используются для придания когезивных качеств
твердому лекарственному составу и, таким образом, обеспечивают сохранение
таблетки, микросферы или гранулы неповрежденными после формирования
лекарственных форм. Пригодные связующие вещества включают, но не
ограничиваясь только ими, крахмал, предварительно желатинизированный
10 крахмал, желатин, сахара (включая сахарозу, глюкозу, декстрозу, лактозу и
сорбит), полиэтиленгликоль, воски, натуральные и синтетические камеди, такие
как аравийская камедь, трагакант, альгинат натрия, целлюлоза, включая
гидроксипропилметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, продукт AVCEL®
(микрокристаллическую целлюлозу), этилцеллюлозу и вигум, и синтетические
15 полимеры, такие как сополимеры акриловой и метакриловой кислот,
сополимеры метакриловой кислоты, сополимеры метилметакрилата, сополимеры
аминоалкилметакрилата, полиакриловую кислоту/полиметакриловую кислоту и
поливинилпирролидон.

«Смазывающее вещество» используются для упрощения получения
20 таблеток. Примеры пригодных смазывающих веществ включают, но не
ограничиваясь только ими, стеарат магния, стеарат кальция, стеариновую
кислоту, бегенат глицерина, полиэтиленгликоль, тальк и минеральное масло,
прежде всего в интервале концентраций в составе от 0,5 до 2,6 мас.%,
предпочтительно от 1 до 2,0 мас.%.

25 «Разрыхлители» используются для ускорения дезинтеграции или
«разрушения» лекарственной формы после введения и обычно включают, но не
ограничиваясь только ими, крахмал, натриевую соль гликолята крахмала,
натриевую соль карбоксиметилкрахмала, натриевую соль
карбоксиметилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозу, предварительно
30 желатинизированный крахмал, глины, целлюлозу, альгинин, камеди или сшитые
полимеры, такие как сшитый ПВП (Polyplasdone® XL производства фирмы GAF
Chemical Corp.).

«Стабилизаторы» используются для подавления или замедления реакций разложения лекарственных средств, которые включают, например, окислительные реакции. Пригодные стабилизаторы включают, но не ограничиваясь только ими, антиоксиданты, бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), аскорбиновую кислоту, ее соли и сложные эфиры. витамин Е, токоферол и его соли, сульфиты, такие как метабисульфит натрия, цистеин и его производные, лимонную кислоту, пропилгаллат и бутилированный гидроксианизол (ВНА).

Жидкости для перорального введения

Жидкие лекарственные формы для перорального введения включают, но не ограничиваясь только ими, фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Кроме активных соединений, жидкие лекарственные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области техники, такие как, например, вода или другие растворители, солюбилизующие агенты и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, масла (прежде всего, хлопковое, арахисовое, кукурузное, масло пшеничных зародышей, оливковое, касторовое и кунжутное масла), глицерин, тетрагидрофурфуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот, и сорбита и их смеси. Кроме инертных разбавителей, пероральные композиции могут также включать адъюванты, такие как смачивающие агенты, эмульгаторы и суспендирующие агенты, подсластители, ароматизаторы и отдушки. Пригодными суспендирующими агентами являются, например, натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, метилцеллюлоза, альгинат натрия и т.п.

Парентеральные композиции

Фармацевтическую композицию также можно вводить парентерально с использованием инъекции, вливания или имплантации (внутривенной, внутримышечной, подкожной и т.п.) в лекарственных формах, составах или с помощью пригодных устройств доставки или имплантатов, содержащих обычные нетоксичные фармацевтически приемлемые носители. и адъюванты.

Рецептура и приготовление таких композиций хорошо известны специалистам в области фармацевтических композиций.

Композиции для парентерального применения можно получать в виде стандартных лекарственных форм (например, в ампулах для однократного введения) или во флаконах, содержащих несколько доз и в которые можно добавлять пригодный консервант (см. ниже). Обычно такие композиции можно получать в виде препаратов для инъекций, например, растворов или суспензий; твердых форм, пригодных для приготовления растворов или суспензий при добавлении среды для растворения перед инъекцией, эмульсий, таких как эмульсии вода-в-масле (в/м), эмульсии масло-в-воде (м/в) и их микроэмульсии, липосомы или эмульсомы.

Композиции для внутривенного введения упаковывают в виде растворов в стерильном изотоническом водном буферном растворе. При необходимости композиция может также включать солюбилизирующий агент. Компоненты композиции можно получать либо каждый в отдельности, либо в виде смеси в стандартной лекарственной форме, например, в виде сухого лиофилизированного порошка (который перед применением можно растворить в носителе, таком как физиологический раствор) или в виде концентрированного раствора в герметически закрытом контейнере, таком как ампула или пакетик с указанием количества активного агента. Если композиция предназначена для вливания, ее можно поместить в бутылку для вливания, содержащую стерильную воду или физиологический раствор с фармацевтической степенью чистоты. Если композицию следует вводить инъекцией, можно предоставить ампулу со стерильной водой или физиологическим раствором для смешивания ингредиентов перед инъекцией.

Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, один или более полиолов (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль), масла, такие как растительные масла (например, арахисовое масло, кукурузное масло, кунжутное масло и т.д.) и их комбинации. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, с использованием покрытия, такого как лецитин, для поддержания требуемого размера частиц в случае диспергирования и/или использования поверхностно-активных веществ. Во многих случаях

предпочтительно включать изотонические агенты, например, сахара или хлорид натрия.

Растворы и дисперсии активных соединений в виде свободной кислоты или основания или их фармакологически приемлемых солей можно получать в воде или другом растворителе или дисперсионной среде, пригодным образом смешанных с одним или более фармацевтически приемлемых эксципиентов, включая, помимо прочего, буферные вещества, поверхностно-активные вещества, диспергирующие агенты, эмульгаторы, модификаторы вязкости и их комбинации.

Пригодные поверхностно-активные вещества могут представлять собой анионные, катионные, амфотерные или неионогенные поверхностно-активные вещества. Пригодные анионные поверхностно-активные вещества включают, но не ограничиваясь только ими, вещества, содержащие карбоксилатные, сульфонатные и сульфатные ионы. Примеры анионных поверхностно-активных веществ включают натриевые, калиевые, аммониевые соли длинноцепочечных алкилсульфонатов и алкиларилсульфонатов, такие как натриевая соль додецилбензолсульфоната, натриевая соль диалкилсульфосукцинатов, такая как натриевая соль додецилбензолсульфоната; натриевая соль диалкилсульфосукцината, такие как натриевая соль бис-(2-этилтиоксил)сульфосукцината; и алкилсульфатов, такая как натриевая соль лаурилсульфата. Катионные поверхностно-активные вещества включают, но не ограничиваясь только ими, соединения четвертичного аммония, такие как хлорид бензалкония, хлорид бензетония, бромид цетримония, хлорид стеарилдиметилбензиламмония, полиоксиэтилен и амин кокосового масла.

Примеры неионогенных поверхностно-активных веществ включают моностеарат этиленгликоля, миристан пропиленгликоля, глицерилмоностеарат, глицерилстеарат, полиглицерил-4-олеат, ацилат сорбита, ацилат сахарозы, лаурат ПЭГ-150, монолаурат ПЭГ-400, монолаурат полиоксиэтилена, полисорбаты, простой октилфениловый эфир полиоксиэтилена, цетиловый эфир ПЭГ-1000, тридециловый эфир полиоксиэтилена, бутиловый эфир полипропиленгликоля, Poloxamer® 401, стеароилмоноизопропаноламид и полиоксиэтиленовый гидрированный амид твердого жира. Примеры амфотерных поверхностно-активных веществ включают натриевую соль N-додецил-β-

аланина, натриевую соль N-лаурил- β -иминодипропионата, миристоамфоацетата, лаурилбетаина и лаурилсульфобетаина. Состав может содержать консервант для предотвращения роста микроорганизмов. Пригодные консерванты включают, но не ограничиваясь только ими, парабены, хлорбутанол, фенол, сорбиновую кислоту и тимеросал. Состав может также содержать антиоксидант для предотвращения деградации активного(ых) агента(ов).

Величина pH состава обычно составляет до 3-8 для парентерального введения после растворения. Пригодные буферные растворы включают, но не ограничиваясь только ими, фосфатные, ацетатные и цитратные буферные растворы.

В некоторых вариантах буферный агент присутствует в количестве, позволяющем довести pH фармацевтической композиции по изобретению до приблизительно 6-8. В некоторых вариантах буферный агент добавляют в количестве приблизительно 0,1-5 мг на мг деструктора IRAK4 (например, соединения A) или его фармацевтически приемлемого производного.

В некоторых вариантах величина pH жидкой фармацевтической композиции составляет приблизительно 6-8. В некоторых вариантах величина pH жидкой фармацевтической композиции по изобретению составляет приблизительно 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9, 7,0, 7,1, 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9 или 8,0.

Водорастворимые полимеры в большинстве случаев используют в составах для парентерального введения. Пригодные водорастворимые полимеры включают, но не ограничиваясь только ими, поливинилпирролидон, декстран, карбоксиметилцеллюлозу и полиэтиленгликоль.

Стерильные растворы для инъекций можно получить при включении активных соединений в требуемом количестве в соответствующий растворитель или дисперсионную среду в смеси с одним или более эксципиентов, перечисленных выше, при необходимости с последующей стерилизацией фильтрованием. В основном, дисперсии получают при включении различных стерильных активных ингредиентов в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и необходимые другие ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков, предназначенных для получения стерильных инъекционных растворов, предпочтительными способами

получения являются способы высушивания в вакууме и лиофильного высушивания, которые позволяют получить порошкообразный активный ингредиент в смеси с любым требуемым дополнительным ингредиентом из предварительно стерилизованного фильтрованием раствора. Порошки можно
5 приготовить таким образом, чтобы частицы представляли собой пористые по своей природе частицы, что может ускорить растворение частиц. Способы изготовления пористых частиц хорошо известны в данной области техники.

Парентеральные составы, описанные в данном контексте, можно получать в виде составов с контролируемым высвобождением, включая немедленное
10 высвобождение, отсроченное высвобождение, пролонгированное высвобождение, пульсирующее высвобождение и их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается жидкая фармацевтическая композиция, полученная при растворении твердой фармацевтической композиции по изобретению в воде. В некоторых вариантах
15 изобретения предлагается жидкая фармацевтическая композиция, полученная при растворении твердой фармацевтической композиции по изобретению в инъекционной среде (например, в солевом растворе или 5%-ной декстрозе). В некоторых вариантах предлагается жидкая фармацевтическая композиция, полученная при растворении твердой фармацевтической композиции по
20 изобретению в воде с последующим разбавлением 5%-ной декстрозой. В некоторых вариантах жидкую фармацевтическую композицию растворяют в пакете с 5%-ной декстрозой для внутривенного введения, предназначенной для внутривенного введения. В некоторых вариантах жидкую фармацевтическую композицию в пакете с 5%-ной декстрозой для внутривенного вливания следует
25 хранить при комнатной температуре (приблизительно 20-25°C) вплоть до приблизительно 4 ч перед внутривенным введением. В некоторых вариантах жидкую фармацевтическую композицию в пакете с 5%-ной декстрозой для внутривенного вливания следует хранить в холодильнике (приблизительно 2-8°C) вплоть до приблизительно 20 ч перед внутривенным введением. В
30 некоторых вариантах жидкую фармацевтическую композицию в пакете с 5%-ной декстрозой для внутривенного вливания следует хранить в холодильнике (приблизительно 2-8°C) вплоть до приблизительно 20 ч, а затем хранить при

комнатной температуре (приблизительно 20-25°C) вплоть до приблизительно 4 ч перед внутривенным введением.

Применение соединений и фармацевтически приемлемых композиций

Соединения и композиции, описанные в данном контексте, в основном
5 можно использовать для деградации киназной активности одного или более ферментов.

В некоторых вариантах настоящего изобретения предлагаются деструкторы IRAK, которые модулируют направленное убиквитинилирование и деградацию одной или более киназ IRAK. В некоторых вариантах предлагается деструктор
10 IRAK, который модулирует направленное убиквитинилирование и деградацию одной или более киназ IRAK и одного или более дополнительных белков. В некоторых случаях предлагаемый деструктор IRAK модулирует направленное убиквитинилирование и деградацию IRAK4 и одного, двух, трех, четырех или пяти дополнительных белков.

15 В некоторых вариантах изобретение относится к деструкторам IRAK, которые сочетают деградацию киназой IRAK с расщеплением неосубстратов IKZF1 и IKZF3. Некоторыми из наиболее часто используемых лигандов E3-лигазы являются талидомид и его производные, леналидомид и помалидомид, обычно называемые IMiD (иммуномодулирующие имидные лекарственные
20 средства). Эти агенты представляют собой низкомолекулярные лиганды цереблona (CRBN) (Ito и др. "Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity", Science, 327(5971):1345-1350 (2010)), адаптер субстрата для повсеместно экспрессируемой куллин-кольцевой лигазы 4 (CUL4)-RBX1-DDB1-CRBN (CUL4CRBN) E3-лигазы. Было установлено, что талидомид
25 взаимодействует с CRBN с образованием новой поверхности, что приводит к взаимодействию с неосубстратами, такими как Ikaros (IKZF1) и Aiolos (IKZF3), и их убиквитинированию и последующей протеасомной деградации (Krönke и др. «Lenalidomide causes selective degradation of IKZF1 and IKZF3 in multiple myeloma cells», Science, 343(6168):301-305 (2014), и Lu et al., «The myeloma drug
30 lenalidomide promotes the cereblon-dependent destruction of Ikaros proteins», Science, 343(6168):305-309 (2014)). Эта активность сама по себе характеризуется высоко эффективным противоопухолевым действием при некоторых жидких злокачественных новообразованиях, и леналидомид (Ревлимид®) одобрен

управлением FDA (управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США для лечения MCL, множественной миеломы и миелодиспластических синдромов с делецией хромосомы 5q. Леналидомид также проходит последнюю стадию клинических испытаний для лечения ряда лимфом, включая MCL и подтип диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы с активированными В-клетками (ABC DLBCL).

Было установлено, что активация MYD88-мутаций увеличивает продуцирование бета-IFN, проапоптотического цитокина, в клетках ABC-DLBCL (Yang и др. «Exploiting synthetic lethality for the therapy of ABC diffuse large B cell lymphoma» *Cancer Cell*, 21(6):723-737 (2012)). Клетки становятся устойчивыми к этому эффекту за счет сопутствующей MYD88-управляемой активации передачи сигналов NFkB через IRF4 и SPIB, трансактивирующих CARD11 (Yang, *Cancer Cell* (2012)). Известно также, что препараты IMiD повышают ответ IFN в MYD88-мутантных клетках ABC-DLBCL до уровня, достаточного для повышения апоптоза (Yang, *Cancer Cell* (2012); и Hagner и др. “CC-122, a pleiotropic pathway modifier, mimics an interferon response and has antitumor activity in DLBCL” *Blood*, 126:779-789 (2015)). Было установлено, что этот эффект характеризуется синергизмом с ингибированием передачи сигналов NFkB, что еще больше способствует гибели клеток DLBCL (Yang, *Cancer Cell* (2012)).

В некоторых случаях комбинация IMiD с низкомолекулярным ингибитором киназы IRAK4 практически не оказывает аддитивного эффекта на жизнеспособность MYD88-мутантных клеточных линий ABC DLBCL, таких как OCI-LY10. В некоторых вариантах комбинация ингибитора IRAK4 с IMiD проявляет меньшую активность, чем деструкторы IRAK, предложенные в данном контексте.

В некоторых вариантах комбинация деградации IRAK4 с деградацией IKZF1 и IKZF3 проявляет высокоэффективную активность одного агента в отношении MYD88-мутантных клеточных линий ABC DLBCL *in vitro* и ксенотрансплантата OCI-LY10 *in vivo*. В некоторых вариантах деструкторы IRAK4 на основе IMiD сохраняют деградацию Ikaros (IKZF1) и других известных неосубстратов IMiD, в то же время более эффективно индуцируя интерфероновый ответ по сравнению с одним помалидомидом. В некоторых вариантах деструкторы IRAK4 на основе IMiD способны уничтожать MYD88-

мутантные клеточные линии ABD-DLBCL *in vitro*, проявляя повышенную активность по сравнению с активностью, наблюдаемой при комбинировании ингибитора IRAK4 с IMiD в качестве отдельных агентов.

В некоторых вариантах предлагаемый деструктор IRAK4 на основе IMiD расщепляет IRAK4, Ikaros и Aiolos в ксенотрансплантатах клеточной линии ABC DLBCL с MYD88-мутацией *in vivo* и эффективно индуцирует сигнатуру интерферон-управляемых белков, примером которой является IFIT1 (интерферон-индуцируемый транскрипт 1) и IFIT3 (интерферон-индуцируемый транскрипт 3). В некоторых вариантах предлагаемый деструктор IRAK4 на основе IMiD вызывает регрессию ксенотрансплантатов опухолей в качестве единственного агента.

В некоторых вариантах предлагаемые соединения по настоящему изобретению усиливают синергизм, наблюдаемый при объединении деградации IRAK4 с индукцией IMiD ответа интерферона, для управления противоопухолевой активностью одного агента в MYD88-мутантных клетках DLBCL и, возможно, при других злокачественных гематологических новообразованиях. В некоторых вариантах предлагаемый деструктор IRAK4 на основе IMiD разрушает IRAK4, Ikaros и Aiolos, и действует по синергетическому механизму. В некоторых вариантах предлагаемый деструктор IRAK4 на основе IMiD расщепляет IRAK4, Ikaros и Aiolos с повышенной активностью по сравнению с предлагаемым деструктором IRAK4, содержащим то же связующее IRAK4 и лигазу E3, не на основе IMiD, и ту же лигазу E3 на основе IMiD, в качестве единственного агента.

В некоторых вариантах пролиферативное заболевание, которое можно лечить способами по настоящему изобретению, представляет собой нарушение, вызванное MyD88. В некоторых вариантах заболевание, вызванное MyD88, которое можно лечить способами по настоящему изобретению, выбрано из ABC DLBCL, первичных лимфом ЦНС, первичных экстранодальных лимфом, макроглобулинемии Вальденстрема, лимфомы Ходжкина, первичной кожной Т-клеточной лимфомы и хронического лимфоцитарного лейкоза.

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения ABC DLBCL у нуждающегося в таком лечении пациента, включающему

введение деструктора IRAK4 (например, соединения А) по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения первичных лимфом ЦНС у нуждающегося в таком лечении пациента, включающему введение деструктора IRAK4 (например, соединения А) по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения лимфомы Ходжкина у нуждающегося в таком лечении пациента, включающему введение деструктора IRAK4 (например, соединения А) по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения первичной кожной Т-клеточной лимфомы у нуждающегося в таком лечении пациента, включающему введение деструктора IRAK4 (например, соединения А) по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения хронического лимфоцитарного лейкоза у нуждающегося в таком лечении пациента, включающему введение деструктора IRAK4 (например, соединения А) по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения солидных и жидких опухолей у нуждающегося в таком лечении пациента, включающему введение деструктора IRAK4 (например, соединения А) по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения макроглобулинемии Вальденстрема с MYD88-мутацией у нуждающегося в таком лечении пациента, включающему введение деструктора IRAK4 (например, соединения А) по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения AML или его разновидности у нуждающегося в таком лечении пациента, включающему введение деструктора IRAK4 (например, соединения А) по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения NSCLC у нуждающегося в таком лечении пациента, включающему введение деструктора IRAK4 (например, соединения А) по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли.

5 В некоторых вариантах пролиферативное заболевание, которое можно лечить способами по настоящему изобретению, представляет собой расстройство, вызванное IL-1. В некоторых вариантах расстройство, вызванное IL-1, представляет собой вялотекущую множественную миелому.

10 В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения взрослых пациентов с В-клеточной лимфомой с MYD88-мутацией, которые ранее прошли один предварительный курс лечения.

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения взрослых пациентов с В-клеточной лимфомой с MYD88-мутацией, которые ранее прошли 2 предварительных курса лечения.

15 В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения взрослых пациентов с В-клеточной лимфомой с MYD88-мутацией, которые ранее прошли по меньшей мере один предварительный курс лечения.

20 В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения взрослых пациентов с В-клеточной лимфомой с MYD88-мутацией, которые ранее прошли по меньшей мере 2 предварительных курса лечения.

Комбинированная терапия

В зависимости от конкретной В-клеточной лимфомы с MYD88-мутацией, которую необходимо излечить, дополнительные терапевтические агенты, которые обычно вводят для лечения этого состояния, можно вводить в
25 комбинации с соединениями и композициями по настоящему изобретению. Как указано в данном контексте, дополнительные терапевтические препараты, которые обычно вводят для лечения конкретной В-клеточной лимфомы с MYD88-мутацией, известны как «пригодные для заболевания или состояния, которое необходимо лечить».

30 В некоторых вариантах предлагаемую комбинацию или ее композицию вводят в комбинации с другим терапевтическим агентом.

В некоторых вариантах в настоящем изобретении предлагается способ лечения указанного заболевания или состояния, включающий введение

пациенту, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества соединения, описанного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли и совместное одновременное или последовательное введение эффективного количества одного или более дополнительных терапевтических агентов, таких как описанные в данном контексте. В некоторых вариантах способ включает совместное введение одного дополнительного терапевтического препарата. В некоторых вариантах способ включает совместное введение двух дополнительных терапевтических препаратов. В некоторых вариантах комбинация описанного соединения и дополнительного терапевтического агента или агентов действует по синергетическому механизму.

Примеры агентов, которые также можно включать в комбинации по настоящему изобретению, включают, без ограничения только перечисленным: противовоспалительные агенты, такие как кортикостероиды, блокаторы TNF, IL-1 RA, азатиоприн, циклофосфамид и сульфасалазин; иммуномодулирующие и иммуносупрессивные агенты, такие как циклоспорин, такролимус, рапамицин, мофетилмикофенолат, интерфероны, кортикостероиды, циклофосфамид, азатиоприн и сульфасалазин; нейротрофические факторы, такие как ингибиторы ацетилхолинэстеразы, ингибиторы МАО, интерфероны, противосудорожные средства, блокаторы ионных каналов, рилузол и противопаркинсонические средства; средства для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, такие как бета-блокаторы, ингибиторы ACE, диуретики, нитраты, блокаторы кальциевых каналов и статины; агенты для лечения заболеваний печени, такие как кортикостероиды, холестирамин, интерфероны и противовирусные агенты; агенты для лечения заболеваний крови, такие как кортикостероиды, противолейкозные агенты и факторы роста; агенты, пролонгирующие или улучшающие фармакокинетику, такие как ингибиторы цитохрома P450 (т.е. ингибиторы метаболического распада) и ингибиторы CYP3A4 (например, кетоконазол и ритонавир), и агенты для лечения иммунодефицитных состояний, такие как гамма-глобулин.

В некоторых вариантах комбинированную терапию по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую композицию вводят в комбинации с моноклональным антителом или терапевтическим средством на основе siРНК (короткая интерферирующая РНК).

Эти дополнительные агенты можно вводить отдельно от предлагаемой комбинированной терапии, в виде части схемы многократной дозировки. В другом варианте, эти агенты можно вводить в виде части однократной лекарственной формы, в смеси с соединением по настоящему изобретению в составе единой композиции. При введении в виде части схемы многократной дозировки два активных агента можно вводить одновременно, последовательно или в течение периода времени отдельно друг от друга, обычно в пределах пяти часов в отдельности друг от друга.

Используемый в данном контексте термин «комбинация», «комбинированный» и родственные термины относятся к одновременному или последовательному введению терапевтических агентов в соответствии с настоящим изобретением. Например, комбинацию по настоящему изобретению можно вводить с другим терапевтическим средством одновременно или последовательно в виде отдельных стандартных лекарственных форм или вместе в одной стандартной лекарственной форме.

Количество дополнительного терапевтического агента, присутствующего в композициях по настоящему изобретению, не должно превышать количество, которое обычно вводят в композиции, содержащей этот терапевтический агент в качестве единственного активного агента. Предпочтительно количество дополнительного терапевтического агента в композициях, описанных в данном контексте, будет находиться в диапазоне приблизительно от 50% до 100% в расчете на количество, обычно присутствующее в композиции, содержащей этот агент в качестве единственного терапевтически активного агента.

Один или более других терапевтических агентов можно вводить отдельно от соединения или композиции по изобретению в виде части схемы многократной дозировки. В другом варианте, одно или более других терапевтических средств можно вводить в виде части однократной лекарственной формы, в виде смеси с соединением по настоящему изобретению в одной композиции. При введении по схеме многократной дозировки одно или более других терапевтических средств и соединение или композицию по изобретению можно вводить одновременно, последовательно или в течение определенного периода времени в отдельности друг от друга, например, в

течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 18, 20, 21, 22, 23 или 24 ч в отдельности друг от друга.

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств и соединение или композицию по изобретению вводят по схеме многократной дозировки с интервалом более 24 ч.

В одном варианте в настоящем изобретении предлагается композиция, содержащая предлагаемый деструктор IRAK4 или его фармацевтически приемлемую соль и одно или более дополнительных терапевтических средств. Терапевтическое средство можно вводить вместе с предлагаемым деструктором IRAK4 или его фармацевтически приемлемой солью, или можно вводить до или после введения предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли. Пригодные терапевтические агенты более подробно описаны ниже. В некоторых вариантах предлагаемый деструктор IRAK4 или его фармацевтически приемлемую соль можно вводить до терапевтического агента за 5 минут, 10 минут, 15 минут, 30 минут, 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часов, 5 часа, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 9 часов, 10 часов, 11 часов, 12 часов, 13 часов, 14 часов, 15 часов, 16 часов, 17 часов или 18 часов. В других вариантах предлагаемый деструктор IRAK4 или его фармацевтически приемлемую соль можно вводить после введения терапевтического агента через 5 минут, 10 минут, 15 минут, 30 минут, 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 9 часов, 10 часов, 11 часов, 12 часов, 13 часов, 14 часов, 15 часов, 16 часов, 17 часов или 18 часов.

В другом варианте настоящее изобретение относится к способу лечения солидной опухоли, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли и одного или более дополнительных терапевтических агентов, выбранных из ритуксимаба (Rituxan®), циклофосфида (Cytosan®), доксорубина (Hydrodaunorubicin®), винкристина (Oncovin®), преднизона, ингибитора передачи сигналов пути хеджхок, ингибитора ВТК, ингибитора JAK/ran-JAK, ингибитора TYK2, ингибитора PI3K, ингибитора SYK, и их комбинаций.

В другом варианте настоящее изобретение относится к способу лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL), включающему

введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли и одного или более дополнительных терапевтических агентов, выбранных из ритуксимаба (Rituxan®), циклофосфида (Cytosan®), доксорубина (Hydrodaunorubicin®),
5 винкристина (Oncovin®), преднизона, ингибитора передачи сигналов хеджхок и их комбинаций.

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения DLBCL, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически
10 приемлемой соли и препарата CHOP (циклофосфамид, гидродаунорубин®, онковин® и преднизон или преднизолон) или проведение курса химиотерапии R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфамид, гидродаунорубин®, онковин® и преднизолон или преднизолон).

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу
15 лечения DLBCL, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли и проведения курса химиотерапии (ритуксимаб или бендамустин).

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу
20 лечения DLBCL, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора ВТК (например, ибрутиниба).

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу
25 лечения DLBCL, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли и антитела к CD20 (например, ритуксимаба).

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу
30 лечения DLBCL, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли и анти-CD79B ADC (например, полатузумаба).

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения DLBCL, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком

лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора BCL2 (например, венетоклакса).

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения DLBCL, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком
5 лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли и леналидомида или помалидомида.

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения DLBCL, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком
10 лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора PI3K (например, умбралисиба).

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения Т-клеточных заболеваний или недостаточности, описанных в данном контексте, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении,
15 предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора PI3K (например, умбралисиба).

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения DLBCL, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком
лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора протеасом (например, бортезомиба).

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения DLBCL, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком
20 лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли и гибридного антигенного рецептора Т клеток.

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу
25 лечения В клеточной лимфомы с MYD88-мутацией, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 (например, соединения А) или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора ВТК (например, ибрутиниба).

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу
30 лечения В клеточной лимфомы с MYD88-мутацией, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 (например, соединения А) или его фармацевтически приемлемой соли и антитела anti-CD20 (например, ритуксимаба).

В некоторых вариантах настоящее изобретение относится к способу лечения В клеточной лимфомы с MYD88-мутацией, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 (например, соединения А) или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора BCL2 (например, венетоклакса).

В другом варианте настоящее изобретение относится к способу лечения множественной миеломы, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли и одного или более дополнительных терапевтических агентов, выбранных из бортезомиба (Velcade®) и дексаметазона (Decadron®), ингибитора передачи сигналов хеджхок, ингибитора BTK, ингибитора JAK/pan-JAK, ингибитора TYK2, ингибитора PI3K, ингибитора SYK в комбинации с леналидомидом (Revlimid®).

В другом варианте настоящее изобретение относится к способу лечения макроглобулинемии Вальденстрема, включающему введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его фармацевтически приемлемой соли и одного или более дополнительных терапевтических агентов, выбранных из хлорамбуцила (Leukeran®), циклофосфамида (Cytoxan®, Neosar®), флударабина (Fludara®), кладрибина (Leustatin®), ритуксимаба (Rituxan®), ингибитора передачи сигналов хеджхок, ингибитора BTK, ингибитора JAK/pan-JAK, ингибитора TYK2, ингибитора PI3K и ингибитора SYK.

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств являются антагонистами пути хеджхок. Одобренные ингибиторы пути хеджхок, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают сонидегиб (Odomzo®, Sun Pharmaceuticals); и висмодегиб (Erivedge®, Genentech), оба для лечения базально-клеточной карциномы.

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибитор поли-АДФ-рибозополимеразы (PARP). В некоторых вариантах ингибитор PARP выбирают из олапариба (Lynparza®, AstraZeneca); рукапариба (Rubraca®, Clovis Oncology); нирапариба (Zejula®, Tesaro); талазопариба (MDV3800/BMN 673/LT00673,

Medivation/Pfizer/Biomarin); велипариба (ABT-888, AbbVie) и BGB-290 (BeiGene, Inc.).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC). В некоторых вариантах ингибитор HDAC выбирают из вориностата (Zolinza®, Merck); ромидепсина (Istodax®, Celgene); панобиностата (Farydac®, Novartis); белиностата (Beleodaq®, Spectrum Pharmaceuticals); энтиностата (SNDX-275, Syndax Pharmaceuticals) (NCT00866333); и хидамида (Epidaza®, HBI-8000, Chipscreen Biosciences, Китай).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибитор CDK, такой как ингибитор CDK4/CDK6. В некоторых вариантах ингибитор CDK 4/6 выбирают из палбоциклиба (Ibrance®, Pfizer); рибоциклиба (Kisqali®, Novartis); абемациклиба (Ly2835219, Eli Lilly) и трилациклиба (G1T28, G1 Therapeutics).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибитор фолиевой кислоты. Одобренные ингибиторы фолиевой кислоты, применимые в настоящем изобретении, включают пеметрексед (Alimta®, Eli Lilly).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибитор хемокинового рецептора CC 4 (CCR4). Исследуемые ингибиторы CCR4, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают могамулизумаб (Poteligeo®, Kyowa Hakko Kirin, Япония).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибитор изоцитратдегидрогеназы (IDH). Исследуемые ингибиторы IDH, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают AG120 (Celgene; NCT02677922); AG221 (Celgene, NCT02677922; NCT02577406); BAY1436032 (Bayer, NCT02746081); IDH305 (Novartis, NCT02987010).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибитор аргиназы. Исследуемые ингибиторы аргиназы, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают AEB1102 (пегилированная рекомбинантная аргиназа, Aeglea Biotherapeutics), которая

находится в фазе 1 клинических испытаний для острого миелоидного лейкоза и миелодиспластического синдрома (NCT02732184) и солидных опухолей (NCT02561234) и CB-1158 (Calithera Biosciences).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибитор глутаминазы. Исследуемые ингибиторы глутаминазы, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают CB-839 (Calithera Biosciences).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой антитела, которые связываются с опухолевыми антигенами, то есть белками, экспрессируемыми на клеточной поверхности опухолевых клеток. Одобренные антитела, которые связываются с опухолевыми антигенами, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают ритуксимаб (Rituxan®, Genentech/BiogenIdex); офатумумаб (анти-CD20, Arzerra®, GlaxoSmithKline); обинутузумаб (анти-CD20, Gazyva®, Genentech), ибритумомаб (анти-CD20 и иттрий-90, Zevalin®, Spectrum Pharmaceuticals); даратумумаб (анти-CD38, Darzalex®, Janssen Biotech), динутуксимаб (антигликолипидный GD2, Unituxin®, United Therapeutics); трастузумаб (анти-HER2, Herceptin®, Genentech); адо-трастузумаб эмтанзин (гибридный препарат анти-HER2 - эмтанзин, Kadcyla®, Genentech) и пертузумаб (анти-HER2, Perjeta®, Genentech); и брентуксимаб ведотин (конъюгат анти-CD30-лекарственное средство, Adcetris®, Seattle Genetics).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибиторы топоизомеразы. Одобренные ингибиторы топоизомеразы, применимые в настоящем изобретении, включают иринотекан (Onivyde®, Merrimack Pharmaceuticals), топотекан (Tucametin®, GlaxoSmithKline). Исследуемые ингибиторы топоизомеразы, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают пиксантрон (Pixuvri®, CTI Biopharma).

В некоторых вариантах одно или несколько других терапевтических средств представляют собой ингибиторы антиапоптотических белков, таких как BCL-2. Одобренные антиапоптотические средства, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают венетоклакс (Venclexta®, AbbVie/Genentech) и блинатумомаб (Blincyto®, Amgen). Другие терапевтические

агенты, направленные на апоптотические белки, которые прошли клинические испытания и их можно использовать в настоящем изобретении, включают навитоклакс (ABT-263, Abbott), ингибитор BCL-2 (NCT02079740).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибиторы рецепторов андрогенов. Одобренные ингибиторы рецепторов андрогенов, применимые в настоящем изобретении, включают энзалутамид (Xtandi®, Astellas/Medivation); одобренные ингибиторы синтеза андрогенов включают абиратерон (Zytiga®, Centocor/Ortho), одобренный антагонист рецептора гонадотропин-высвобождающего-гормона (GnRH) (дегараликс, Firmagon®, Ferring Pharmaceuticals).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой селективный модулятор эстрогеновых рецепторов (SERM), которые препятствуют синтезу или активности эстрогенов. Одобренные SERM, применимые в настоящем изобретении, включают ралоксифен (Evista®, Eli Lilly).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибитор резорбции кости. Одобренным терапевтическим средством, которое ингибирует резорбцию кости, является деносумаб (Xgeva®, Amgen), антитело, которое связывается с RANKL, предотвращает связывание с его рецептором RANK, обнаруженным на поверхности остеокластов, их предшественников и остеокластоподобных гигантских клеток, которые опосредуют патологии костной ткани при солидных опухолях с костными метастазами. Другие одобренные терапевтические средства, подавляющие резорбцию кости, включают бисфосфонаты, такие как золедроновая кислота (Zometa®, Novartis).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибитор взаимодействия между двумя первичными белками-супрессорами p53, MDMX и MDM2. Исследуемые ингибиторы супрессорных белков p53, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают ALRN-6924 (Aileron), сшитый пептид, который в равной степени связывается с MDMX и MDM2 и нарушает взаимодействие с p53. В настоящее время ALRN-6924 проходит клинические испытания для лечения

AML, прогрессирующего миелодиспластического синдрома (MDS) и периферической Т клеточной лимфомы (PTCL) (NCT02909972, NCT02264613).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибитор трансформирующего фактора роста-бета (TGF-бета или TGF β). Исследуемые ингибиторы белков TGF-бета, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают NIS793 (Novartis), антитело против TGF-бета, которое проходит клинические испытания для лечения различных видов рака, включая рак молочной железы, легких, гепатоцеллюлярный рак, колоректальный рак, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы и почки (NCT 02947165). В некоторых вариантах ингибитор белков TGF-бета представляет собой фрезолимумаб (GC1008; Sanofi-Genzyme), который проходит испытания для лечения меланомы (NCT00923169); почечно-клеточной карциномы (NCT00356460) и немелкоклеточного рака легкого (NCT02581787). Кроме того, в некоторых вариантах дополнительное терапевтическое средство представляет собой TGF-бета-ловушку, такую как описано в статье Connolly и др. Int'l J. Biological Sciences 8:964-978 ((2012). Одним из терапевтических соединений, которые в настоящее время проходят клинические испытания для лечения солидных опухолей, является M7824 (Merck KgaA - ранее MSB0011459X), которое представляет собой биспецифическое соединение-ловушку anti-PD-L1/TGF β (NCT02699515) и (NCT02517398). M7824 состоит из полноразмерного антитела человека IgG1 против PD-L1, в виде гибридного белка с внеклеточным доменом TGF-бета-рецептора II человека, который функционирует как «ловушка»-TGF β .

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств выбирают из глембатумумаба ведотин-монометилауристатина Е (MMAE) (Celldex), антитела против гликопротеина NMB (gpNMB) (CR011), связанного с цитотоксическим MMAE. gpNMB представляет собой белок, сверхэкспрессируемый несколькими типами опухолей, связанный со способностью раковых клеток к метастазированию.

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой антипролиферативные соединения. Такие антипролиферативные соединения включают, но не ограничиваясь только ими, ингибиторы ароматазы; антиэстрогены. ингибиторы топоизомеразы I,

ингибиторы топоизомеразы II, активные соединения микротрубочек.

алкилирующие соединения. ингибиторы гистондеацетилазы, соединения,

индуцирующие процессы дифференциации клеток, ингибиторы

циклооксигеназы, ингибиторы MMP, ингибиторы mTOR, противоопухолевые

5 антиметаболиты, соединения платины, соединения, направленные

на/снижающие активность протеин- или липидкиназы, и другие

антиангиогенные соединения, соединения, которые направлены на, снижают или

ингибируют активность протеин- или липидфосфатазы; агонисты гонадорелина,

антиандрогены, ингибиторы метионинаминопептидазы, ингибиторы матричной

10 металлопротеиназы, бисфосфонаты, модификаторы биологического ответа;

антипролиферативные антитела, ингибиторы гепараназы, ингибиторы

онкогенных изоформ Ras, ингибиторы теломеразы, ингибиторы протеасомы,

соединения, используемые при лечении гематологических злокачественных

новообразований, соединения, которые направлены на, снижают или

15 ингибируют активность Flt-3, ингибиторы Hsp90, такие как 17-AAG (17-

аллиламиногельданамицин, NSC330507), 17-DMAG (17-

диметиламиноэтиламино-17-деметоксигельданамицин, NSC707545), IPI-504,

CNF1010, CNF2024, CNF1010 фирмы Conforma Therapeutics, темозоломид

(Temodal[®]), ингибиторы веретенообразного белка кинезина, такие как SB715992

20 или SB743921 фирмы GlaxoSmithKline, или пентамидин/хлорпромазин фирмы

CombinatoRx; ингибиторы MEK, такие как ARRY142886 фирмы Array

BioPharma, AZd₆244 фирмы AstraZeneca, PD181461 фирмы Pfizer и лейковорин.

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств

представляют собой соединение таксана, которое вызывает разрушение

25 микротрубочек, необходимых для клеточного деления. В некоторых вариантах

соединение таксана выбрано из паклитаксела (Taxol[®], Bristol-Myers Squibb),

доцетаксела (Taxotere[®], Sanofi-Aventis; Docefrez[®], Sun Pharmaceutical),

паклитаксела, связанного с альбумином (Abraxane[®]; Abraxis/Celgene),

кабазитаксела (Jevtana[®], Sanofi-Aventis) и SID530 (SK Chemicals, Co.)

30 (NCT00931008).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств

представляют собой нуклеозидный ингибитор или терапевтические средства,

которые препятствуют нормальному синтезу ДНК, синтезу белка, репликации клеток или иным образом ингибируют быстро пролиферирующие клетки.

В некоторых вариантах нуклеозидный ингибитор выбран из трабектедина (алкилирующий агент гуанидина, Yondelis®, Janssen Oncology), мехлорэтамину (алкилирующий агент, Valchlor®, Aktelion Pharmaceuticals); винкристина (Oncovin®, Eli Lilly; Vincasar®, Teva Pharmaceuticals; Marqibo®, Talon Therapeutics); темозоломида (пролекарство алкилирующего агента 5-(3-метилтриазен-1-ил)имидазол-4-карбоксамида (MTIC) Temodar®, Merck); цитарабина для инъекции (ага-С, антиметаболический аналог цитидина, Pfizer); ломустина (алкилирующий агент, CeeNU®, Bristol-Myers Squibb; Gleostine®, NextSource Biotechnology); азацитидина (пиримидиновый нуклеозидный аналог цитидина, Vidaza®, Celgene); омацетаксина мепесукцината (сложный эфир цефалотаксина) (ингибитор синтеза белка, Synribo®; Teva Pharmaceuticals); аспарагиназы *Erwinia chrysanthemi* (фермент для истощения аспарагина, Elspar®, Lundbeck; Erwinaze®, EUSA Pharma); эрибулина мезилата (ингибитор микротрубочек, антимитотик на основе тубулина, Halaven®, Eisai); кабазитаксела (ингибитор микротрубочек, антимитотик на основе тубулина, Jevtana®, Sanofi-Aventis, капецетрина (ингибитор тимидилатсинтазы, Xeloda®, Genentech), бендамустина (бифункциональное производное мехлорэтамину, которое, как полагают, образует поперечные связи между нитями ДНК, Treanda®, Cephalon/Teva); иксабепилона (полусинтетический аналог эпотилона В, ингибитор микротрубочек, антимитотика на основе тубулина, Ixempra®, Bristol-Myers Squibb); неларабина (пролекарство аналога дезоксигуанозина, нуклеозидный ингибитор метаболизма, Arranon®, Novartis); клофафабина (пролекарство ингибитора рибонуклеотидредуктазы, конкурентный ингибитор дезоксицитидина, Clolar®, Sanofi-Aventis) и трифлуридина и типирацила (аналог нуклеозида на основе тимидина и ингибитор тимидинфосфорилазы, Lonsurf®, Taiho Oncology).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибитор киназы или антагонист VEGF-R. Одобренные ингибиторы VEGF и ингибиторы киназы, используемые в настоящем изобретении, включают: бевацизумаб (Авастин®, Genentech/Roche), моноклональное антитело anti-VEGF; рамуцирумаб (Cyramza®, Eli Lilly),

антитело anti-VEGFR-2 и зив-афлиберцепт, также известный как VEGF-ловушка (Zaltrap®; Regeneron/Sanofi), ингибиторы VEGFR, такие как регорафениб (Stivarga®, Bayer); вандетаниб (Caprelsa®, AstraZeneca); акситиниб (Inlyta®, Pfizer) и ленватиниб (Lenvima®, Eisai); ингибиторы Raf, такие как сорафениб (Nexavar®, Bayer AG и Онук); дабрафениб (Тафинлар®, Novartis) и вемурафениб (Zelboraf®, Genentech/Roche); ингибиторы MEK, такие как кобиметаниб (Cotellic®, Exelexis/Genentech/Roche); траметиниб (Mekinist®, Novartis), ингибиторы тирозинкиназы Bcr-Abl, такие как иматиниб (Gleevec®, Novartis); нилотиниб (Tasigna®, Novartis); дазатиниб (Sprycel®, BristolMyersSquibb); бозутиниб (Bosulif®, Pfizer); и понатиниб (Inclusig®, Ariad Pharmaceuticals); ингибиторы Her2 и EGFR, такие как гефитиниб (Iressa®, AstraZeneca); эрлотиниб (Tarceeva®, Genentech/Roche/Astellas); лапатиниб (Tykerb®, Novartis); афатиниб (Gilotrif®, Boehringer Ingelheim); осимертиниб (направленный на активированный EGFR, Tagrisso®, AstraZeneca); и бригаиниб (Alunbrig®, Ariad Pharmaceuticals); ингибиторы c-Met и VEGFR2, такие как кабозанитиб (Cometriq®, Exelexis); и ингибиторы мультикиназ, такие как сунитиниб (Sutent®, Pfizer); пазопаниб (Votrient®, Novartis); ингибиторы ALK, такие как кризотиниб (Xalkori®, Pfizer); церитиниб (Zykadia®, Novartis); и алектиниб (Alecenza®, Genentech/Roche); ингибиторы тирозинкиназы Брутона, такие как ибрутиниб (Imbruvica®, Pharmacyclos/Janssen); и ингибиторы рецептора Flt3, такие как мидостаурин (Rydapt®, Novartis).

Другие ингибиторы киназ и антагонисты VEGF-R, которые находятся в разработке и их можно использовать в настоящем изобретении, включают тивозаниб (Aveo Pharmaceuticals); ваталаниб (Bayer/Novartis); луцитаниб (Clovis Oncology); довитиниб (TKI258, Novartis); чиауаниб (Chipscreen Biosciences); CEP-11981 (Cephalon); линифаниб (Abbott Laboratories); нератиниб (HKI-272, Puma Biotechnology); радотиниб (Supect®, IY5511, Il-Yang Pharmaceuticals, Южная Корея); руксолитиниб (Jakafi®, Incyte Corporation); PTC299 (PTC Therapeutics); CP-547632 (Pfizer); фопетиниб (Exelexis, GlaxoSmithKline); квизартиниб (Daiichi Sankyo) и мотезаниб (Amgen/Takeda).

В другом варианте в настоящем изобретении предлагается способ лечения или снижения тяжести заболевания, включающий введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его

фармацевтически приемлемой соли и ингибитора ВТК, при этом заболевание
выбрано из В клеточного пролиферативного нарушения, например, диффузной В
крупноклеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, хронической
лимфоцитарной лимфомы, хронического лимфолейкоза, острого
5 лимфоцитарного лейкоза, В клеточного пролимфоцитарного лейкоза,
лимфоплазмочитарной лимфомы/макроглобулинемии Вальденстрема, лимфомы
маргинальной зоны селезенки, множественной миеломы (также известной как
плазмноклеточная миелома), неходжкинской лимфомы, лимфомы Ходжкина,
плазмцитомы, экстранодальной В клеточной лимфомы маргинальной зоны,
10 узловой В клеточной лимфомы маргинальной зоны, мантийно-клеточной
лимфомы, медиастинальной (тимусной) крупноклеточной В клеточной
лимфомы, внутрисосудистой крупноклеточной В клеточной лимфомы,
первичной выпотной лимфомы, лимфомы/лейкоза Беркитта или
лимфоматоидного гранулематоза.

15 В другом варианте настоящее изобретение относится к способу лечения или
уменьшения тяжести заболевания, включающему введение пациенту,
нуждающемуся в таком лечении, предлагаемого деструктора IRAK4 или его
фармацевтически приемлемой соли и ингибитора PI3K, при этом заболевание
выбрано от лимфом (включая, например, неходжкинскую лимфому (NHL) и
20 лимфому Ходжкина (также называемую болезнью Ходжкина или болезнью не-
Ходжкина)).

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств
представляют собой ингибиторы фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K),
выбранные из идедалисиба (Zydelig®, Gilead), алпелисиба (BYL719, Novartis),
25 таселисиба (GDC-0032, Genentech/Roche); пиктилисиба (GDC-0941,
Genentech/Roche); копанлисиба (BAY806946, Bayer); дювелисиба (ранее IPI-145,
Infinity Pharmaceuticals); PQR309 (Piqur Therapeutics, Швейцария); и TGR1202
(ранее RP5230, TG Therapeutics).

30 Соединение по настоящему изобретению можно также эффективно
использовать в комбинации с другими антипролиферативными соединениями.
Такие антипролиферативные соединения включают, но не ограничиваясь только
ими, ингибиторы ароматазы, антиэстрогены, ингибиторы топоизомеразы I,
ингибиторы топоизомеразы II, активные соединения микротрубочек,

алкилирующие соединения, ингибиторы гистондеацетилазы, соединения, индуцирующие процессы дифференциации клеток, ингибиторы циклооксигеназы, ингибиторы MMP, ингибиторы mTOR, противоопухолевые антиметаболиты, соединения платины, соединения, направленные на/снижающие активность протеин- или липидкиназы, и другие антиангиогенные соединения; соединения, которые направлены на, снижают или ингибируют активность протеин- или липидфосфатазы, агонисты гонадорелина; антиандрогены, ингибиторы метионинаминопептидазы, ингибиторы матричных металлопротеиназ, бисфосфонаты, модификаторы биологического ответа, антипролиферативные антитела, ингибиторы гепараназы, ингибиторы онкогенных изоформ Ras, ингибиторы теломеразы, ингибиторы протеасом; соединения, применяемые при лечении гематологических злокачественных новообразований, соединения, которые направлены на, снижают или ингибируют активность Flt-3; ингибиторы Hsp90, такие как 17-AAG (17-алламиногельданамицин, NSC330507), 17-DMAG (17-диметиламиноэтиламино-17-деметоксигельданамицин, NSC707545), IPI-504, CNF1010, CNF2024, CNF1010 фирмы Conforma Therapeutics, темозоломид (Temodal®); ингибиторы веретенообразного белка кинезина, такие как SB715992 или SB743921 фирмы GlaxoSmithKline, или пентамидин/хлорпромазин фирмы CombinatoRx; ингибиторы MEK, такие как ARRY142886 фирмы Array BioPharma, AZD6244 фирмы AstraZeneca, PD181461 фирмы Pfizer и лейковорин.

Термин «ингибитор ароматазы», используемый в данном контексте, относится к соединению, которое ингибирует продуцирование эстрогена, например, превращение субстратов андростендиона и тестостерона в эстрон и эстрадиол соответственно. Термин включает, но не ограничиваясь только ими, стероиды, прежде всего атаместан, экземестан и форместан, и, прежде всего, нестероиды, прежде всего аминоклутетимид, роглетимид, пиридоглютетимид, трилостан, тестолактон, кетоконазол, ворозол, фадрозол, анастрозол и летрозол. Экземестан выпускается под торговым названием Aromasin™. Форместан выпускается под торговым названием Lentaron™. Фадрозол выпускается под торговым названием Afema™. Анастрозол выпускается под торговым названием Arimidex™. Летрозол выпускается под торговым названием Femara™ или Femar™. Аминоклутетимид выпускается под торговым названием Orimeten™.

Комбинация по изобретению, включающая химиотерапевтическое средство, которое представляет собой ингибитор ароматазы, прежде всего эффективна для лечения опухолей, положительных к рецепторам гормонов, таких как опухоли молочной железы.

5 В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибитор mTOR, который ингибирует пролиферацию клеток, ангиогенез и потребление глюкозы. В некоторых вариантах ингибитор mTOR представляет собой эверолимус (Afinitor®, Novartis), темсиролимус (Torisel®, Pfizer), и сиролимус (Rapamune®, Pfizer).

10 В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой ингибиторы ароматазы. В некоторых вариантах ингибитор ароматазы выбирают из экземестана (Aromasin®, Pfizer); анастазол (Arimidex®, AstraZeneca) и летрозол (Femara®, Novartis).

Используемый в данном контексте термин «антиэстроген» относится к соединению, которое противодействует эффекту эстрогенов на уровне рецептора эстрогена. Термин включает, но не ограничиваясь только ими, тамоксифен, фулвестрант, ралоксифен и гидрохлорид ралоксифена. Тамоксифен выпускается под торговым названием Nolvadex™. Ралоксифена гидрохлорид выпускается под торговым названием Evista™. Фулвестрант можно вводить под торговым названием Faslodex™. Комбинация по изобретению, включающая химиотерапевтическое средство, которое представляет собой антиэстроген, прежде всего эффективна для лечения опухолей, положительных к рецептору эстрогена, таких как опухоли молочной железы.

Используемый в данном контексте термин «антиандроген» относится к любому веществу, которое способно ингибировать биологические эффекты андрогенных гормонов, и включает, но не ограничиваясь только ими, бикалутамид (Casodex™). Используемый в данном контексте термин «агонист гонадорелина» включает, но не ограничиваясь только ими, абареликс, гозерелин и ацетат гозерелина. Гозерелин можно вводить под торговым названием Zoladex™.

Термин «ингибитор топоизомеразы I», используемый в настоящем документе, включает, но не ограничиваясь только ими, топотекан, гиматекан, иринотекан, камптотецин и его аналоги, 9-нитрокамптотецин и

макромолекулярный конъюгат камптотецина PNU-166148. Иринотекан можно вводить, например, в форме, в которой он выпускается, например, под торговым названием Camptosar™. Топотекан выпускается под торговым названием Нусамптин™.

- 5 Термин «ингибитор топоизомеразы II», используемый в настоящем документе, включает, но не ограничиваясь только ими, антрациклины, такие как доксорубин (включая липосомальный состав, такой как Caelyx™), даунорубин, эпирубин, идарубин и неморубин, антрахиноны митоксантрон и лосоксантрон, и подофиллотоксины этопозид и тенипозид.
- 10 Этопозид выпускается под торговым названием Etopophos™. Тенипозид выпускается под торговым названием VM 26-Bristol. Доксорубин выпускается под торговым названием акрибластин™ или адриамицин™. Эпирубин выпускается под торговым названием Farmorubicin™. Идарубин выпускается под торговым названием Zavedos™. Митоксантрон выпускается под торговым
- 15 названием Novantron.

- Термин «активный агент микротрубочек» относится к соединениям, стабилизирующим микротрубочки, дестабилизирующим микротрубочки и ингибиторам полимеризации микротубулина, включая, но не ограничиваясь
- 20 только ими, таксаны, такие как паклитаксел и доцетаксел; алкалоиды барвинка, такие как винбластин или сульфат винбластина, винкрестин или сульфат винкрестина и винорелбин, дискодермолиды, кохицин и эпотилоны и их производные. Паклитаксел выпускается под торговым названием Taxol™. Доцетаксел выпускается под торговым названием Taxotere™. Сульфат винбластина выпускается под торговым названием Vinblastin R.P™. Сульфат
- 25 винкрестина выпускается под торговым названием Farmistin™.

- Термин «алкилирующий агент», используемый в настоящем документе, включает, но не ограничивается только ими, циклофосфамид, ифосфамид, мелфалан или нитрозомочевину (BCNU или Gliadel). Циклофосфамид выпускается под торговым названием Cyclostin™. Ифосфамид выпускается под
- 30 торговым названием Holoxan™.

 Термин «ингибиторы гистондеацетилазы» или «ингибиторы HDAC» относится к соединениям, которые ингибируют гистондеацетилазу и которые

обладают антипролиферативной активностью. Эти соединения включают, но не ограничиваясь только ими, субериоланилид гидроксамовой кислоты (SANA).

Термин «противоопухолевый антиметаболит» включает, но не ограничиваясь только ими, 5-фторурацил или 5-FU, капецитабин, гемцитабин, 5 деметилирующие ДНК соединения, такие как 5-азациитидин и децитабин, метотрексат и эдатрексат, и антагонисты фолиевой кислоты, такие как как пеметрексед. Капецитабин выпускается под торговым названием Xeloda™. Гемцитабин выпускается под торговым названием Gemzar™.

Термин «соединение платины», используемый в настоящем документе, 10 включает, но не ограничиваясь только ими, карбоплатин, цис-платин, цисплатин и оксалиплатин. Карбоплатин можно вводить, например, в форме, в которой он выпускается, например, под торговым названием Carboplat™. Оксалиплатин можно вводить, например, в форме, в которой он выпускается, например, под торговым названием элоксатин™.

15 Термин «ингибитор Bcl-2», используемый в настоящем документе, включает, но не ограничиваясь только ими, соединения, обладающие ингибирующей активностью в отношении белка В клеточной лимфомы 2 (Bcl-2), включая, но не ограничиваясь только ими, ABT-199, ABT-731, ABT-737, апогоссипол, ингибиторы pan-Bcl-2 Ascenta, куркумин (и его аналоги), двойные 20 ингибиторы Bcl-2/Bcl-xL (Infinity Pharmaceuticals/Novartis Pharmaceuticals), Genasense (G3139), HA14-1 (и его аналоги, см. WO 2008/118802, US 2010/0197686), навитоклакс (и его аналоги, см. US 7390799), NH-1 (Shenayng Pharmaceutical University), обатоклакс (и его аналоги, см. WO 2004/106328, US 2005/0014802), S-001 (Gloria Pharmaceuticals), соединения серии TW 25 (Мичиганский университет) и венетоклакс. В некоторых вариантах ингибитор Bcl-2 представляет собой низкомолекулярный терапевтический препарат. В некоторых вариантах ингибитор Bcl-2 представляет собой пептидомиметик.

Термин «соединения, направленные на/снижающие активность протеин- или липидкиназы или активность протеин- или липидфосфатазы, или другие 30 антиангиогенные соединения», использованный в настоящем документе, включает, но не ограничиваясь только ими, ингибиторы протеин- и/или серин-тирозинкиназы и/или ингибиторы треонинкиназы или ингибиторы липидкиназы, такие как а) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие

активность рецепторов фактора роста тромбоцитов (PDGFR), такие как соединения, которые направлены на, снижают или ингибируют активность PDGFR, прежде всего соединения, которые ингибируют рецептор PDGF, такие как производное N-фенил-2-пиримидинамина, такое как иматиниб, SU101, 5 SU6668 и GFB-111; б) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецепторов фактора роста фибробластов (FGFR); в) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецептора I инсулиноподобного фактора роста (IGF-IR), такие как соединения, которые направлены на, снижают или ингибируют активность IGF-IR, прежде 10 всего соединений, которые ингибируют киназную активность рецептора IGF-I, или антител, которые направлены на внеклеточный домен рецептора IGF-I или его факторы роста; г) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецептора Trk семейства тирозинкиназ, или ингибиторы эфрина B4; д) соединения, направлены на, снижающие или 15 ингибирующие активность рецептора Axl семейства тирозинкиназ; е) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецептора Ret тирозинкиназы; ж) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецептора Kit/SCFR тирозинкиназы, такие как иматиниб; з) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие 20 активность рецептора C-Kit тирозинкиназ, которые являются частью семейства PDGFR, такие как соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность семейства тирозинкиназ рецептора c-Kit, прежде всего соединения которые ингибируют рецептор c-Kit, такие как иматиниб; и) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность членов семейства 25 c-Abl, гибридные продукты их генов (например, киназа BCR-Abl) и мутанты, такие как соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность членов семейства c-Abl и гибридные продукты их генов, такие как производное N-фенил-2-пиримидинамина, такое как иматиниб или нилотиниб (AMN107); PD180970; AG957; NSC 680410; PD173955 фирмы ParkeDavis; или 30 дазатиниб (BMS-354825); к) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность членов семейства протеинкиназы C (PKC) и семейства серин/треонинкиназ Raf, членов семейства MEK, SRC, JAK/pan-JAK, FAK, PDK1, PKB/Akt, семейства Ras/MAPK, PI3K, SYK, TYK2, BTK и TEC

и/или членов семейства циклинзависимых киназ (CDK), включая производные стауроспорина, такие как мидостаурин; примеры других соединений включают UCN-01, сафингол, BAY 43-9006, бриостатин 1, перифозин, илльмофозин; RO 318220 и RO 320432; GO 6976; Isis 3521; LY333531/LY379196; изохинолиновые соединения; FTI; PD184352 или QAN697 (ингибитор P13K) или AT7519 (ингибитор CDK); л) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность ингибиторов протеин-тирозинкиназы, такие как соединения, которые направлены на, снижают или ингибируют активность ингибиторов протеин-тирозинкиназы, включают мезилат иматиниба (Gleevec™) или тирфостин, такой как Tyrphostin A23/RG- 50810; AG 99; тирфостин AG 213; Тирфостин AG 1748; тирфостин AG 490; тирфостин B44; энантиомер тирфостина B44 (+); тирфостин AG 555; AG 494; тирфостин AG 556, AG957 и адафостин (адамантиловый эфир 4-{[(2,5-дигидроксифенил)метил]амино}бензойной кислоты; NSC 680410, адафостин); м) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность семейства рецепторных тирозинкиназ эпидермального фактора роста (EGFR1 ErbB2, ErbB3, ErbB4 в виде гомо- или гетеродимеров) и их мутанты, такие как соединения, которые направлены на, снижают или ингибируют активность семейства рецепторов эпидермального фактора роста и представляют собой, прежде всего, соединения, белки или антитела, которые ингибируют членов семейства тирозинкиназ рецептора EGF, такие как рецептор EGF, ErbB2, ErbB3 и ErbB4 или связываются с EGF или родственными EGF лигандами, CP 358774, ZD 1839, ZM 105180; трастузумаб (Herceptin™), цетуксимаб (Erbix™), Иресса, Тарцева, OSI-774, CI-1033, ЕКВ-569, GW-2016, E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3 или E7.6.3 и производные 7Н-пирроло-[2,3-d]пиримидина; н) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецептора с-Met, такие как соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность с-Met, прежде всего соединения, которые ингибируют киназную активность рецептора с-Met, или антитела, направленные на внеклеточный домен с-Met или связываются с HGF, о) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие киназную активность одного или более членов семейства JAK (JAK1/JAK2/JAK3/ТYK2 и/или пан-JAK), включая, но не ограничиваясь только ими, PRT-062070, SB-1578, барицитиниб,

пакритиниб, момелотиниб, VX-509, AZD-1480, TG-101348, тофацитиниб и руксолитиниб; п) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие киназную активность киназы PI3 (PI3K), включая, но не ограничиваясь только ими, ATU-027, SF-1126, DS-7423, PBI-05204, GSK-2126458, ZSTK-474,

5 бупарлисиб, пиктрелисиб, PF-4691502, BYL-719, дактолисиб, XL-147, XL-765 и иделалисиб; и с) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие сигнальные эффекты белков хеджхок (Hh) или сглаженные пути рецепторов (SMO), включая, но не ограничиваясь только ими, циклопамин, висмодегиб, итраконазол, эрисмодегиб и IPI-926 (саридегиб).

10 Соединения, которые направлены на, снижающие или ингибирующие активность протеин- или липидфосфатазы, представляют собой, например, ингибиторы фосфатазы 1, фосфатазы 2A или CDC25, такие как окадаевая кислота или ее производное.

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств
15 представляют собой антагонист фактора роста, такой как антагонист тромбоцитарного фактора роста (PDGF) или эпидермального фактора роста (EGF) или его рецептора (EGFR). Одобренные антагонисты PDGF, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают оларатумаб (Lartruvo®; Eli Lilly). Одобренные антагонисты EGFR, которые можно
20 использовать в настоящем изобретении, включают цетуксимаб (Erbix®; Eli Lilly); нецитумумаб (Portrazza®, Eli Lilly), панитумумаб (Vectibix®, Amgen); и осимертиниб (направленный на активированный EGFR, Tagrisso®, AstraZeneca).

Термин «ингибитор PI3K», используемый в настоящем документе, включает, но не ограничиваясь только ими, соединения, обладающие
25 ингибирующей активностью в отношении одного или более ферментов семейства фосфатидилинозит-3-киназ, включая, но не ограничиваясь только ими, PI3K α , PI3K γ , PI3K δ , PI3K β , PI3K-C2 α , PI3K-C2 β , PI3K-C2 γ , Vps34, p110- α , p110- β , p110- γ , p110- δ , p85- α , p85- β , p55- γ , p150, p101 и p87. Примеры ингибиторов PI3K, применимых в данном изобретении, включают, но не
30 ограничиваясь только ими, ATU-027, SF-1126, DS-7423, PBI-05204, GSK-2126458, ZSTK-474, бупарлисиб, пиктрелисиб, PF-4691502, BYL-719, дактолисиб, XL-147, XL-765 и иделалисиб.

Используемый в данном контексте термин «ингибитор ВТК» включает, но не ограничиваясь только ими, соединения, обладающие ингибирующей активностью в отношении тирозинкиназы Брутона (ВТК), включая, но не ограничиваясь только ими, AVL-292 и ибрутиниб.

5 Термин «ингибитор SYK», используемый в данном документе, включает, но не ограничиваясь только ими, соединения, обладающие ингибирующей активностью в отношении тирозинкиназы селезенки (SYK), включая, но не ограничиваясь только ими, PRT-062070, R-343, R-333, Excellair, PRT-062607 и фостаматиниб.

10 Другие антиангиогенные соединения включают соединения, проявляющие свою активность по другому механизму, например, механизму, не связанному с ингибированием протеин- или липидкиназ, т.е. талидомид (Таломид™) и TNP-470.

15 Примеры ингибиторов протеасом, приемлемых для применения в комбинации с соединениями по изобретению, включают, но не ограничиваясь только ими, бортезомиб, дисульфирам, эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG), салиноспирамид А, карфилзомиб, ONX-0912, CEP-18770 и MLN9708.

20 Соединения, которые направлены на, снижают или ингибируют активность протеин- или липидфосфатазы, представляют собой, например, ингибиторы фосфатазы 1, фосфатазы 2А или CDC25, такие как окадаевая кислота или ее производное.

Соединения, которые индуцируют процессы дифференциации клеток, включают, но не ограничиваясь только ими, ретиноевую кислоту, α - γ - или δ -токоферол или α - γ - или δ -токотриенол.

25 Термин «ингибитор циклооксигеназы», используемый в настоящем документе, включает, но не ограничиваясь только ими, ингибиторы COX-2, 5-алкилзамещенную 2-ариламинофенилуксусную кислоту и производные, такие как целекоксиб (Celebrex™), рофекоксиб (Vioxx™), эторикоксиб, вальдекоксиб или 5-алкил-2-ариламинофенилуксусную кислоту, такую как 5-метил-2-(2'-хлор-6'-фторанилино)фенилуксусная кислота, лумиракоксиб.

30 Термин «ингибиторы mTOR» относится к соединениям, которые ингибируют мишень рапамицина у млекопитающих (mTOR) и которые обладают

антипролиферативной активностью, таким как сиролимус (Rapamune®), эверолимус (Certican™), CCI-779 и ABT578.

5 Термин «ингибитор гепараназы», используемый в данном документе, относится к соединениям, которые направлены на, уменьшают или ингибируют деградацию сульфата гепарина. Термин включает, но не ограничиваясь только ими, PI-88. Используемый в данном контексте термин «модификатор биологического ответа» относится к лимфокину или интерферонам.

10 Термин «ингибитор онкогенных изоформ Ras», таких как H-Ras, K-Ras или N-Ras, используемый в настоящем документе, относится к соединениям, которые направлены на, снижают или ингибируют онкогенную активность Ras; например, «ингибитор фарнезилтрансферазы», такой как L-744832, DK8G557 или R115777 (Zarnestra™). Термин «ингибитор теломеразы», используемый в данном контексте, относится к соединениям, которые направлены на, снижают или ингибируют активность теломеразы. Соединения, которые направлены на, снижают или ингибируют активность теломеразы, представляют собой, прежде
15 всего, соединения, которые ингибируют рецептор теломеразы, такие как теломестатин.

Термин «ингибитор протеасомы», используемый в данном документе, относится к соединениям, которые направлены на, снижают или ингибируют
20 активность протеасомы. Соединения, которые направлены на, снижают или ингибируют активность протеасомы, включают, но не ограничиваясь только ими, бортезомиб (Velcade™); карфилзомиб (Kymprolis®, Amgen) и иксазомиб (Ninlaro®, Takeda) и 341 MLN.

Термин «ингибитор матриксной металлопротеиназы» или («ингибитор MMP»), используемый в настоящем документе, включает, но не ограничиваясь
25 только ими, пептидомиметики и непептидомиметики - ингибиторы коллагена, производные тетрациклина, например, гидроксаматный пептидомиметик-ингибитор батимастат и его перорально биодоступный аналог маримастат (BB-2516), приномастат (AG3340), метастат (NSC 683551) BMS-279251, BAY 12-9566, TAA211, MMI270B или AAJ996.
30

Термин «соединения, используемые для лечения гематологических злокачественных новообразований», используемый в настоящем документе, включает, но не ограничиваясь только ими, ингибиторы FMS-подобной

тирозинкиназы, которые представляют собой соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецепторов FMS-подобных тирозинкиназ (FLT-3R); интерферон, 1- β -D-арабинофуранзилцитозин (ara-c) и бисульфат; и ингибиторы ALK, которые представляют собой соединения, которые направлены на, уменьшают или ингибируют киназу анапластической лимфомы.

Соединения, которые направлены на, снижают или ингибируют активность рецепторов FMS-подобных тирозинкиназ (Flt-3R), представляют собой, прежде всего, соединения, белки или антитела, которые ингибируют рецептора членов семейства киназ Flt-3R, такие как PKC412, мидостаурин, производное стауроспорина, SU11248 и MLN518.

Термин «ингибиторы HSP90», используемый в настоящем документе, включает, но не ограничиваясь только ими, соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие собственную АТФазную активность HSP90; деградирующие, направленные на, уменьшающие или ингибирующие белки-клиенты HSP90 через убиквитинный протеосомный путь. Соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие собственную АТФазную активность HSP90, представляют собой, прежде всего, соединения, белки или антитела, которые ингибируют АТФазную активность HSP90, такие как 17-аллиламино-17-деметоксигельданамицин (17AAG), производное гелданамицина; другие родственные гелданамицину соединения; радицикол и ингибиторы HDAC.

Термин «антипролиферативные антитела», используемый в настоящем документе, включает, но не ограничиваясь только ими, трастузумаб (HerceptinTM), Трастузумаб-DM1, эрбитукс, бевацизумаб (AvastinTM), ритуксимаб (Rituxan[®]), PRO64553 (анти-CD40) и антитело 2C4. Антитела означают интактные моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела, образованные по меньшей мере из 2 интактных антител, и фрагменты антител, если они проявляют требуемую биологическую активность.

Включены также вещества, связывающие EDG, и ингибиторы рибонуклеотидредуктазы. Используемый в данном контексте термин «вещества, связывающие EDG» относится к классу иммунодепрессантов, которые

модулируют рециркуляцию лимфоцитов, таких как FTY720. Термин «ингибиторы рибонуклеотидредуктазы» относится к аналогам пиримидиновых или пуриновых нуклеозидов, включая, но не ограничиваясь только ими, флударабин и/или цитозинарабинозид (ага-С), 6-тиогуанин, 5-фторурацил, кладрибин, 6-меркаптопурин (прежде всего в комбинации с ага-С против ALL) и/или пентостатин. Ингибиторами рибонуклеотидредуктазы являются, прежде всего, производные гидроксимочевины или 2-гидрокси-1Н-изоиндол-1,3-диона.

Включены также, прежде всего, соединения, белки или моноклональные антитела VEGF, такие как 1-(4-хлоранилино)-4-(4-пиридилметил)фалазин или его фармацевтически приемлемая соль, 1-(4-хлоранилино)-4-(4-пиридилметил)фалазинсукцинат; ангиостатин™; эндостатин™; амиды антраниловой кислоты; ZD4190; ZD 6474; ZD 5416; SU6668; бевацизумаб; или антитела против VEGF или антитела против рецептора VEGF, такие как rhuMAb и RHUFab, аптамер VEGF, такой как Macugon; ингибиторы FLT-4, ингибиторы FLT-3, антитело IgG1 VEGFR-2, ангиозим (RPI 4610) и бевацизумаб (Avastin™).

Фотодинамическая терапия, используемая в данном документе, относится к терапии, в которой используются определенные химические вещества, известные как фотосенсибилизирующие соединения, для лечения или профилактики рака. Примеры фотодинамической терапии включают лечение соединениями, такими как Visudyne™ и натриевая соль порфимера.

Ангиостатические стероиды, использованные в данном контексте, относятся к соединениям, которые блокируют или ингибируют ангиогенез, таким как, например, анекортав, триамцинолон, гидрокортизон, 11- α -эпигидрокотизол, кортексолон, 17 α -гидроксипрогестерон, кортикостерон, дезоксикортикостерон, тестостерон, эстрон и дексаметазон.

Другие химиотерапевтические соединения включают, но не ограничиваясь только ими, растительные алкалоиды, гормональные соединения и антагонисты; модификаторы биологического ответа, предпочтительно лимфокины или интерфероны; антисмысловые олигонуклеотиды или производные олигонуклеотидов; shРНК или shРНК; или прочие соединения или соединения, действующие по другому или неизвестному механизму.

Другими пригодными комбинациями соединений по изобретению с противовоспалительными лекарственными средствами являются комбинации с

антагонистами хемокиновых рецепторов, например, CCR-1, CCR-2, CCR-3, CCR-4, CCR-5, CCR-6, CCR-7, CCR-8, CCR-9 и CCR10, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, прежде всего CCR-5-антагонисты, такие как антагонисты Schering-Plough SC-351125, SCH-55700 и SCH-D, и антагонисты Takeda, такие как N-[[4-[[[6,7-дигидро-2-(4-метилфенил)-5Н-бензоциклопентен-8-ил]карбонил]амино]фенил]метил]тетрагидро-N,N-диметил-2Н-пиран-4-аминия хлорид (ТАК-770).

Структуру активных соединений, идентифицированных кодовыми номерами, общими или торговыми названиями, можно найти в современном издании стандартного сборника «The Merck Index» или в базах данных, например Patents International (например, IMS World Publications).

Соединение по настоящему изобретению можно также использовать в комбинации с известными терапевтическими методами, например, введением гормонов или облучением. В некоторых вариантах предлагаемый деструктор IRAK4 используют в качестве радиосенсибилизатора, прежде всего для лечения опухолей, которые проявляют низкую чувствительность к лучевой терапии.

Соединение по настоящему изобретению можно вводить отдельно или в комбинации с одним или более других терапевтических соединений, при этом возможная комбинированная терапия включает применение комбинированных препаратов или введение соединения по настоящему изобретению и одного или более других терапевтических соединений, поэтапно или независимо друг от друга, или комбинированное введение фиксированных комбинаций и одного или более других терапевтических соединений. Соединение по настоящему изобретению можно кроме того или дополнительно вводить специально при лечении опухолей в сочетании с химиотерапией, лучевой терапией, иммунотерапией, фототерапией, хирургическим вмешательством или их комбинацией. Длительная терапия в равной степени возможна, как и вспомогательная терапия при осуществлении других стратегий лечения, как описано выше. Другими возможными способами лечения являются терапия для поддержания состояния пациента после регрессии опухоли или даже химиопрофилактическая терапия, например, у пациентов из группы риска.

Типичные иммуно-онкологические агенты

В некоторых вариантах одно или более других терапевтических средств представляют собой иммуно-онкологические средства. Используемый в данном термин «иммуно-онкологический агент» относится к агенту, эффективно усиливающему, стимулирующему и/или активирующему иммунные ответы у субъекта. В некоторых вариантах введение иммуно-онкологического агента вместе с соединением по изобретению оказывает синергический эффект при лечении В клеточной лимфомы с MYD88-мутацией.

Иммуно-онкологический агент может представлять собой, например, низкомолекулярное лекарственное средство, антитело или биологическое или низкомолекулярное вещество. Примеры биологических иммуно-онкологических агентов включают, но не ограничиваясь только ими, противораковые вакцины, антитела и цитокины. В некоторых вариантах антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах моноклональное антитело является гуманизированным или антителом человека.

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой (i) агонист стимулирующего (в том числе костимулирующего) рецептора или (ii) антагонист ингибирующего (в том числе коингибирующего) сигнала на Т клетках, оба из которых приводят к усилению антиген-специфических Т клеточных ответов.

Некоторые из стимулирующих и ингибирующих соединений являются членами суперсемейства иммуноглобулинов (IgSF). Одним важным семейством мембраносвязанных лигандов, которые связываются с костимулирующими или коингибирующими рецепторами, является семейство B7, которое включает B7-1, B7-2, B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA) и B7-H6. Другим семейством связанных с мембраной лигандов, которые связываются с костимулирующими или коингибирующими рецепторами, является семейство соединений TNF, которые связываются с родственными членами семейства рецепторов TNF, которое включает CD40 и CD40L, OX-40, OX-40L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LT β R, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDAR, EDA1, XEDAR, EDA2,

TNFR1, лимфотоксин α /TNF β , TNFR2, TNF α , LT β R, лимфотоксин α 1 β 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY, NGFR.

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой цитокин, который ингибирует активацию Т клеток (например, IL-6, IL-10, TGF- β , VEGF и другие иммуносупрессивные цитокины), или цитокин, который
5 стимулирует активацию Т клеток, для стимуляции иммунного ответа.

В некоторых вариантах комбинация соединения по изобретению и иммуно-онкологического агента может стимулировать ответы Т клеток. В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой: (i) антагонист
10 белка, который ингибирует активацию Т клеток (например, ингибиторы контрольных точек иммунного ответа), такой как CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, TIM-3, галектин 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, галектин-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1 и TIM-4 или (ii) агонист
15 белка, который стимулирует активацию Т клеток, такой как B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27, CD40, DR3 и CD28H.

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой антагонист ингибирующих рецепторов на NK клетках или агонист активизирующих рецепторов на NK клетках. В некоторых вариантах иммуно-
20 онкологический агент представляет собой антагонисты KIR, такие как лирилумаб.

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой агент, который ингибирует или истощает макрофаги или моноциты, включая, но не ограничиваясь только ими, антагонисты CSF-1R, такие как антитела-
25 антагонисты CSF-1R, включая RG7155 (WO 2011/070024, US 2011/0165156, WO 2011/0107553, US 2012/0329997, WO 2011/131407, US 2013/0005949, WO 2013/087699, US 2014/0336363, WO 2013/119716, WO 2013/132044, US 2014/0079706) или FPA-008 (WO 2011/140249, US 2011/0274683; WO 2013/169264; WO 2014/036357, US 2014/0079699).

30 В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент выбран из агонистических агентов, которые лигируют положительные костимулирующие рецепторы, из блокирующих агентов, которые ослабляют передачу сигналов через ингибирующие рецепторы, антагонистов и одного или более агентов,

которые системно повышают частоту противо-опухолевых Т клеток, агентов, которые преодолевают различные иммуносупрессивные пути в микроокружении опухоли (например, блокируют взаимодействие с ингибиторными рецепторами (например, взаимодействие PD-L1/PD-1), истощают или ингибируют Treg (например, с помощью моноклонального антитела против CD25 (например, даклизумаб) или за счет истощения гранул анти-CD25 *ex vivo*), ингибируют метаболические ферменты, такие как IDO, или обращают/предотвращают энергию или истощение Т клеток) и агенты, которые вызывают активацию врожденного иммунитета и/или воспаление в участках опухоли.

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой антагонист CTLA-4. В некоторых вариантах антагонист CTLA-4 представляет собой антагонистическое антитело CTLA-4. В некоторых вариантах антагонистическое антитело к CTLA-4 представляет собой YERVOY (ипилимумаб) или тремелимуаб.

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой антагонист PD-1. В некоторых вариантах антагонист PD-1 вводят методом вливания. В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с рецептором запрограммированной гибели-1 (PD-1) и ингибирует активность PD-1. В некоторых вариантах антагонист PD-1 представляет собой антагонистическое антитело к PD-1. В некоторых вариантах антагонистическое антитело к PD-1 представляет собой OPDIVO (ниволумаб), KEYTRUDA (пембролизумаб) или MEDI-0680 (AMP-514; WO2012/145493). В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент может представлять собой пидилизумаб (CT-011). В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой рекомбинантный белок, состоящий из внеклеточного домена PD-L2 (B7-DC), присоединенного к Fc-фрагменту IgG1, называемому AMP-224.

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой антагонист PD-L1. В некоторых вариантах антагонист PD-L1 представляет собой антагонистическое антитело против PD-L1. В некоторых вариантах антитело к PD-L1 представляет собой MPDL3280A (RG7446, WO 2010/077634, US 2010/0203056), дурвалумаб (MEDI4736), BMS-936559 (WO 2007/005874, US 2009/0055944) и MSB0010718C (WO 2013/079174), US 2014/0341917).

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой антагонист LAG-3. В некоторых вариантах антагонист LAG-3 представляет собой антагонистическое антитело против LAG-3. В некоторых вариантах антитело LAG3 представляет собой BMS-986016 (WO 2010/019570, US 2010/0150892, WO 2014/008218, US 2014/0093511) или IMP-731 или IMP-321 (WO 2008/132601, US 2010/0233183, WO 2009/044273, US 2011/0008331).

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой агонист CD137 (4-1BB). В некоторых вариантах осуществления агонист CD137 (4-1BB) представляет собой агонистическое антитело против CD137. В некоторых вариантах осуществления антитело против CD137 представляет собой урелумаб или PF-05082566 (WO12/32433).

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой агонист GITR. В некоторых вариантах агонист GITR представляет собой агонистическое антитело против GITR. В некоторых вариантах антитело GITR представляет собой BMS-986153, BMS-986156, TRX-518 (WO 2006/105021, US 2007/0098719, WO 2009/009116, US 2009/0136494) или MK-4166 (WO 2011/028683), US 2012/0189639).

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой антагонист индоламин-(2,3)-диоксигеназы (IDO). В некоторых вариантах антагонист IDO выбирают из эпикадостата (INCB024360, Incyte); индоксимода (NLG-8189, NewLink Genetics Corporation); капманитиба (INC280, Novartis); GDC-0919 (Genentech/Roche); PF-06840003 (Pfizer); BMS: F001287 (Bristol-Myers Squibb); Phy906/KD108 (Phytoceutica); фермента, расщепляющего кинуренин (Kynase, Kyn Therapeutics); и NLG-919 (WO 2009/073620, US 2011/053941, WO 2009/132238, US 2011/136796, WO 2011/056652, US 2012/277217, WO 2012/142237, US 2014/066625).

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой агонист OX40. В некоторых вариантах агонист OX40 представляет собой агонистическое антитело OX40. В некоторых вариантах антитело OX40 представляет собой MEDI-6383 или MEDI-6469.

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой антагонист OX40L. В некоторых вариантах антагонист OX40L представляет

собой антагонистическое антитело к OX40. В некоторых вариантах антагонист OX40L представляет собой RG-7888 (WO 2006/029879, US 7501496).

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой агонист CD40. В некоторых вариантах агонист CD40 представляет собой агонистическое антитело против CD40. В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой антагонист CD40. В некоторых вариантах антагонист CD40 представляет собой антагонистическое антитело против CD40. В некоторых вариантах антитело к CD40 представляет собой лукатумумаб или дацетузумаб.

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой агонист CD27. В некоторых вариантах агонист CD27 представляет собой агонистическое антитело против CD27. В некоторых вариантах антитело к CD27 представляет собой варилумаб.

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой MGA271 (против B7H3) (WO 2011/109400, US 2013/0149236).

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой абаговомаб, адекватумумаб, афутузумаб, алемтузумаб, анатумомаб мафенатокс, аполизумаб, атезолимаб, авелумаб, блинатумомаб, BMS-936559, катумаксомаб, дурвалумаб, эпакадостат, эпрутузумаб, индоксимод, инотузумаб, озогамин, интелумумаб, ипилимумаб, изатуксимаб, ламбролизумаб, MED14736, MPDL3280A, ниволумаб, обинутузумаб, окаратузумаб, офатумумаб, олататумаб, пембролизумаб, пидилизумаб, ритуксимаб, тицилимумаб, самализумаб или тремелимумаб.

В некоторых вариантах иммуноонкологический агент представляет собой иммуностимулирующий агент. Например, антитела, блокирующие ингибирующую ось PD-1 и PD-L1, могут высвободить активированные опухолереактивные Т клетки, и в ходе клинических испытаний было установлено, что они вызывают стойкий противоопухолевый ответ во все большем числе гистологий опухолей, включая некоторые типы опухолей, которые обычно не считались чувствительными к иммунотерапии. См., например, Okazaki, T. и др. Nat. Immunol. 14, 1212–1218 (2013); Zou и др. (2016) Sci. Transl. Med. 8 (2016). Было установлено, что антитело против PD-1, ниволумаб (Opdivo®, Bristol-Myers Squibb, также известное как ONO-4538,

MDX1106 и BMS-936558), характеризуется способностью улучшать общую выживаемость у пациентов с RCC, у которых наблюдалось прогрессирование заболевания во время или после предшествующей антиангиогенной терапии.

В некоторых вариантах иммуномодулирующее терапевтическое средство специфически индуцирует апоптоз опухолевых клеток. Одобренные иммуномодулирующие терапевтические средства, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают помалидомид (Pomalyst®, Celgene), леналидомид (Revlimid®, Celgene), ингенола мебутат (Picato®, LEO Pharma).

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой противораковую вакцину. В некоторых вариантах противораковая вакцина выбрана из вакцин сипулеуцел-Т (Provenge®, Dendreon/Valeant Pharmaceuticals), которая была одобрена для лечения бессимптомного или минимально симптоматического метастатического кастрационно-резистентного (резистентного к гормонам) рака предстательной железы; и из талимоген лагерпарепвека (Imlygic®, BioVex/Amgen, ранее известный как T-VEC), из генетически модифицированной онколитической вирусной терапии, одобренной для лечения нерезектабельных кожных, подкожных и узловых поражений при меланоме. В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент выбран из онколитической вирусной терапии, такой как пексастимоген девацирепвек (PexaVec/JX-594, SillaJen/ранее Jennerex Biotherapys), вирус осповакцины с дефицитом тимидинкиназы (TK-), сконструированный для экспрессии GM-CSF для гепатоцеллюлярной карциномы (NCT02562755) и меланомы (NCT00429312); пелареореп (Reolysin®, Oncolytics Biotech), вариант респираторного кишечного ЭХО-вируса (реовируса), который не реплицируется в клетках, не активированных RAS, при многих видах рака, включая колоректальный рак (NCT01622543); рак предстательной железы (NCT01619813); плоскоклеточный рак головы и шеи (NCT01166542); аденокарциному поджелудочной железы (NCT00998322); и немелкоклеточный рак легкого (NSCLC) (NCT 00861627); энаденотуцирев (NG-348, PsiOxus, ранее известный как ColoAd1), аденовирус, сконструированный для экспрессии полноразмерного CD80 и фрагмента антитела, специфичного для белка CD3 Т клеточного рецептора, при раке яичников (NCT02028117); метастатические или прогрессирующие эпителиальные опухоли, такие как колоректальный рак, рак мочевого пузыря,

плоскоклеточный рак головы и шеи, и рак слюнных желез (NCT02636036); ONCOS-102 (Targovax/ранее Oncos), аденовирус, сконструированный для экспрессии GM-CSF, при меланоме (NCT03003676); и перитонеальное заболевание, колоректальный рак или рак яичников (NCT02963831); GL-ONC1 (GLV-1x68/GLV-1x153, Genelux GmbH), вирусы коровьей оспы, сконструированные для экспрессии бета-галактозидазы (бета-гал)/бета-глюкоронидазы или бета-гал/человеческого симпортера йодида натрия (hNIS), соответственно, изучали при карциноматозе брюшины (NCT01443260); раке фаллопиевых труб, раке яичников (NCT 02759588); или CG0070 (Cold Genesys), аденовирус, сконструированном для экспрессии GM-CSF, при раке мочевого пузыря (NCT02365818).

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент выбран из JX-929 (SillaJen/ранее Jennerex Biotherapys), вируса коровьей оспы с ТК-дефицитом и дефицитом фактора роста осповакцины, сконструированного для экспрессии цитозиндезаминазы, который способен превращать пролекарство 5-фторцитозин в цитотоксический препарат 5-фторурацил; TG01 и TG02 (Targovax/ранее Oncos), иммунотерапевтических агентов на основе пептидов, направленных на практически не поддающиеся лечению мутации RAS; и TILT-123 (TILT Biotherapeutic), сконструированного аденовируса, обозначенного как Ad5/3-E2F-delta24-hTNF α -IRES-hIL20; и VSV-GP (ViraTherapeutics), вируса везикулярного стоматита (VSV), сконструированного для экспрессии гликопротеина (GP) вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), который можно дополнительно сконструировать для экспрессии антигенов, предназначенных для повышения антиген-специфического ответа CD8⁺ Т-клеток.

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой Т клетку, сконструированную для экспрессии гибридного антигенного рецептора или CAR. Т клетки, сконструированные для экспрессии такого гибридного антигенного рецептора, называются CAR-Т-клетками.

Были сконструированы рецепторы CAR, которые состоят из связывающих доменов, которые можно получить из природных лигандов, одноцепочечных переменных фрагментов (scFv), полученных из моноклональных антител, специфичных к антигенам клеточной поверхности, связанных с эндодоменами, которые являются функциональным концевым фрагментом Т клеточного

рецептора (TCR), такого как сигнальный домен CD3-дзета из TCR, который способен генерировать сигнал активации в Т лимфоцитах. После связывания антигена такие рецепторы CAR связываются с эндогенными сигнальными путями в эффекторной клетке и генерируют активирующие сигналы, подобные сигналам, которые инициируются комплексом TCR.

Например, в некоторых вариантах CAR-Т-клетка представляет собой одну из клеток, описанных в патенте US 8906682, который в полном объеме включен в настоящий документ в качестве ссылки, в котором описаны CAR-Т-клетки, сконструированные таким образом, чтобы они содержали внеклеточный домен, включающий антигенсвязывающий домен (такой как домен, который связывается с CD19), присоединенный к внутриклеточному сигнальному домену дзета-цепи Т клеточного антигенного рецепторного комплекса (такой как CD3 дзета). При экспрессии в Т клетке CAR способен перенаправлять распознавание антигена на основе специфичности связывания антигена. В случае CD19 антиген экспрессируется на злокачественных В-клетках. В настоящее время проводится более 200 клинических испытаний с использованием CAR-Т с учетом широкого набора показаний.

[<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=chimeric+antigen+receptors&pg=1>].

В некоторых вариантах иммуностимулирующий агент представляет собой активатор орфанного рецептора γ , связанного с рецептором ретиноевой кислоты (ROR γ t). ROR γ t представляет собой фактор транскрипции, играющий ключевую роль в дифференциации и поддержании эффекторных субпопуляций CD4⁺ (Th17) и CD8⁺ (Tc17) Т клеток типа 17, а также в дифференциации субпопуляций клеток врожденного иммунитета, экспрессирующих IL-17, таких как NK клетки. В некоторых вариантах активатором ROR γ t является LYC-55716 (Lycera), который в настоящее время проходит клинические испытания для лечения солидных опухолей (NCT02929862).

В некоторых вариантах иммуностимулирующий агент представляет собой агонист или активатор toll-подобного рецептора (TLR). Пригодные активаторы TLR включают агонист или активатор TLR9, такой как SD-101 (Dynavax). SD-101 представляет собой иммуностимулирующий CpG, который исследуется для В-клеточной, фолликулярной и других лимфом (NCT02254772). Агонисты или активаторы TLR8, которые можно использовать в настоящем изобретении,

включают мотолимод (VTX-2337, VentiRx Pharmaceuticals), который исследуется при плоскоклеточном раке головы и шеи (NCT02124850) и раке яичников (NCT02431559).

Другие иммуно-онкологические агенты, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают урелумаб (BMS-663513, Bristol-Myers Squibb), моноклональное антитело против CD137; варлилумаб (CDX-1127, Celldex Therapeutics), моноклональное антитело против CD27; BMS-986178 (Bristol-Myers Squibb), моноклональное антитело против OX40; лирилумаб (IPH2102/BMS-986015, Innate Pharma, Bristol-Myers Squibb), моноклональное антитело против KIR; монализумаб (IPH2201, Innate Pharma, AstraZeneca), моноклональное антитело против NKG2A; андекаликсимаб (GS-5745, Gilead Sciences), антитело против MMP9; MK-4166 (Merck & Co.), моноклональное антитело против G1TR.

В некоторых вариантах иммуностимулирующий агент выбран из элутузимаба, мифамуртида, агониста или активатора toll-подобного рецептора и активатора ROR γ t.

В некоторых вариантах иммуностимулирующее терапевтический агент представляет собой рекомбинантный интерлейкин 15 человека (rhIL-15). rhIL-15 исследовали в ходе клинических испытаний в качестве средства для лечения меланомы и почечно-клеточного рака (NCT01021059 и NCT01369888) и лейкозов (NCT02689453). В некоторых вариантах иммуностимулирующий агент представляет собой рекомбинантный интерлейкин 12 человека (rhIL-12). В некоторых вариантах иммунотерапевтический агент на основе IL-15 представляет собой гетеродимерный IL-15 (hetIL-15, Novartis/Admune), гибридный комплекс, состоящий из синтетической формы эндогенного IL-15 в комплексе с растворимой альфа-цепью рецептора IL-15-связывающего белка IL-15 (IL15:sIL-15RA), которую исследовали в ходе клинических испытаний фазы I для меланомы, почечно-клеточного рака, немелкоклеточного рака легкого и плоскоклеточной карциномы головы и шеи (NCT02452268). В некоторых вариантах рекомбинантный интерлейкин 12 человека (rhIL-12) представляет собой NM-IL-12 (Neumedicines, Inc.), NCT02544724 или NCT02542124.

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент выбран из агентов, описанных в статье Jerry L. Adams и др., «Big opportunities for small molecules in

immuno-oncology», *Cancer Therapy*, v. 14, pp 603-622 (2015), содержание которой в полном объеме включено в настоящее описание в качестве ссылки. В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент выбирают из типичных соединений, описанных в таблице 1 в статье Jerry L. Adams и др. В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой низкомолекулярное соединение, направленное на иммуно-онкологическую мишень, выбранную из перечисленных в таблице 2 (Jerry L. Adams и др.) В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой низкомолекулярный агент, выбранный из перечисленных в таблице 2 (Jerry L. Adams и др.).

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент выбран из низкомолекулярных иммуно-онкологических агентов, описанных в статье Peter L. Toogood, «Small molecule immuno-oncology therapeutic agents», *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 28, pp 319-329 (2018), содержание которой в полном объеме включено в настоящее описание в качестве ссылки. В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой агент, направленный на сигнальные пути, как описано в статье Peter L. Toogood.

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент выбран из агентов, описанных в статье Sandra L. Ross и др., «Bispecific T cell engager (BiTE®) antibody constructs can mediate bystander tumor cell killing (BiTE®),», *PLoS ONE* 12(8): e0183390, содержание которой в полном объеме включено в настоящее описание в качестве ссылки. В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой конструктор биспецифического антитела, привлекающего Т-клетки (BiTE®). В некоторых вариантах конструктор биспецифического антитела, привлекающего Т-клетки (BiTE®), представляет собой конструктор биспецифического антитела CD19/CD3. В некоторых вариантах конструктор биспецифического антитела, привлекающего Т-клетки (BiTE®), представляет собой конструктор биспецифического антитела EGFR/CD3. В некоторых вариантах конструктор биспецифического антитела, привлекающего Т-клетки (BiTE®), активирует Т-клетки. В некоторых вариантах биспецифический конструктор антитела, привлекающего Т-клетки (BiTE®), активирует Т-клетки, которые высвобождают цитокины, индуцирующие активацию молекулы межклеточной адгезии 1 (ICAM-1) и FAS на клетках, не участвующих в процессе (клетки-спутники). В некоторых вариантах конструктор биспецифического

антитела, привлекающего Т клетки (BiTE®), активирует Т клетки, что приводит к индуцированному лизису клеток-спутников. В некоторых вариантах клетки-спутники находятся в солидных опухолях. В некоторых вариантах клетки-спутники, подвергающиеся лизису, находятся в непосредственной близости от

5 BiTE®-активированных Т клеток. В некоторых вариантах клетки-спутники содержат раковые клетки, отрицательные по опухоль-ассоциированному антигену (ТАА). В некоторых вариантах клетки-спутники содержат EGFR-отрицательные раковые клетки. В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой антитело, которое блокирует ось PD-L1/PD1 и/или

10 CTLA4. В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой размноженную *ex vivo*, инфильтрирующую опухоль Т клетку. В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой конструктор биспецифического антитела или гибридные антигенные рецепторы (CAR), которые непосредственно связывают Т-клетки с опухоль-

15 ассоциированными поверхностными антигенами (ТАА).

Типичные ингибиторы контрольных точек иммунного ответа

В некоторых вариантах иммуно-онкологический агент представляет собой ингибитор контрольных точек иммунного ответа, как описано в настоящем документе.

20 Термин «ингибитор контрольной точки», используемый в данном документе, относится к агентам, пригодным для предотвращения уклонения раковых клеток от иммунной системы пациента. Один из основных механизмов подрыва противоопухолевого иммунитета известен как «истощение Т клеток», которое возникает в результате хронического воздействия на антигены, что

25 приводит к активации ингибирующих рецепторов. Эти ингибирующие рецепторы выполняют функцию иммунных контрольных точек для предотвращения неконтролируемых иммунных реакций.

PD-1 и коингибирующие рецепторы, такие как цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген 4 (CTLA-4, В- и Т-лимфоцитарный аттенюатор (BTLA; CD272), Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина-3 (Tim-3), ген-3 активации лимфоцитов (Lag-3; CD223) и другие в большинстве случаев называют регуляторами контрольных точек. Они действуют как молекулярные «привратники», которые позволяют внеклеточной информации диктовать,

30

следует ли продолжать прогрессирование клеточного цикла и другие внутриклеточные сигнальные процессы.

В некоторых вариантах ингибитор контрольной точки иммунного ответа представляет собой антитело против PD-1. PD-1 связывается с рецептором запрограммированной гибели клеток 1 (PD-1), чтобы предотвратить связывание рецептора с ингибирующим лигандом PDL-1, тем самым подавляя способность опухолей подавлять противоопухолевый иммунный ответ хозяина.

В одном объекте ингибитор контрольной точки представляет собой биологический терапевтический препарат или низкомолекулярное соединение. В другом объекте ингибитор контрольной точки представляет собой моноклональное антитело, гуманизированное антитело, полноразмерное человеческое антитело, гибридный белок или их комбинацию. В еще одном объекте ингибитор контрольной точки ингибирует белок контрольной точки, выбранный из CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK1, CHK2, A2aR, лигандов семейства В-7 или их комбинации. В дополнительном объекте ингибитор контрольной точки взаимодействует с лигандом белка контрольной точки, выбранным из CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK1, CHK2, A2aR, лигандов семейства В-7 или их комбинации. В одном объекте ингибитор контрольной точки представляет собой иммуностимулирующий агент, фактор роста Т клеток, интерлейкин, антитело, вакцину или их комбинацию. В еще одном объекте интерлейкин представляет собой IL-7 или IL-15. В конкретном объекте интерлейкин представляет собой гликозилированный IL-7. В дополнительном объекте вакцина представляет собой вакцину на основе дендритных клеток (DC).

Ингибиторы контрольной точки включают любой агент, который блокирует или ингибирует статистически значимым образом ингибирующие пути иммунной системы. Такие ингибиторы могут включать низкомолекулярные ингибиторы или могут включать антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются и блокируют или ингибируют рецепторы иммунных контрольных точек, или антитела, которые связываются и блокируют или ингибируют лиганды рецепторов иммунных контрольных точек. Типичные

соединения контрольных точек, которые можно направить на блокирование или ингибирование, включают, но не ограничиваясь только ими, CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, GAL9, LAG3, TIM3, VISTA, KIR, 2B4 (принадлежит к семейству соединений CD2 и экспрессируется на всех NK, $\gamma\delta$ и CD8+ ($\alpha\beta$) Т клетках памяти), CD160 (также обозначаемый как BY55), CGEN-15049, киназы CHK 1 и CHK2, A2aR, и различные лиганды семейства В-7. Лиганды семейства В7 включают, но не ограничиваясь только ими, В7-1, В7-2, В7-DC, В7-Н1, В7-Н2, В7-Н3, В7-Н4, В7-Н5, В7-Н6 и В7-Н7. Ингибиторы контрольных точек включают антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, другие связывающие белки, биологические терапевтические средства или низкомолекулярные соединения, которые связываются и блокируют или ингибируют активность одного или более агентов CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD 160 и CGEN-15049. Типичные ингибиторы иммунных контрольных точек включают тремелиумаб (антитело, блокирующее CTLA-4), анти-OX40, моноклональное антитело против PD-L1 (анти-В7-Н1; MEDI4736), МК-3475 (блокатор PD-1), ниволумаб (антитело против PD1), CT-011 (антитело против PDL1), моноклональное антитело BY55, AMP224 (антитело против PDL1), BMS-936559 (антитело против PDL1), MPLDL3280A (антитело против PDL1), MSB0010718C (антитело против PDL1) и ипилимумаб (ингибитор контрольной точки анти-CTLA-4). Белковые лиганды контрольной точки включают, но не ограничиваясь только ими, PD-L1, PD-L2, В7-Н3, В7-Н4, CD28, CD86 и TIM-3.

В некоторых вариантах ингибитор контрольной точки иммунного ответа выбран из антагониста PD-1, антагониста PD-L1 и антагониста CTLA-4. В некоторых вариантах ингибитор контрольной точки выбран из группы, состоящей из ниволумаба (Opdivo®), ипилимумаба (Yervoy®) и пембролизумаба (Keytruda®). В некоторых вариантах ингибитор контрольной точки выбран из ниволумаба (антитело к PD-1, Opdivo®, Bristol-Myers Squibb); пембролизумаба (антитело к PD-1, Keytruda®, Merck); ипилимумаба (антитело против CTLA-4, Yervoy®, Bristol-Myers Squibb); дурвалумаба (антитело к PD-L1, Imfinzi®, AstraZeneca) и атезолизумаба (антитело к PD-L1, Tecentriq®, Genentech).

В некоторых вариантах ингибитор контрольной точки выбран из группы, состоящей из ламбролизумаба (МК-3475), ниволумаба (BMS-936558), пидилизумаба (CT-011), AMP-224, MDX-1105, MEDI4736, MPDL3280A, BMS-936559, ипилимумаба, лирлумаба, IPH2101, пембролизумаба (Кейтруда®) и тремелиумаба.

В некоторых вариантах ингибитор контрольной точки иммунного ответа представляет собой REGN2810 (Regeneron), антитело против PD-1, исследованное с участием пациентов с базально-клеточной карциномой (NCT03132636); NSCLC (NCT03088540); кожной плоскоклеточной карциномой (NCT02760498); лимфомой (NCT02651662); и меланомой (NCT03002376); пидилизумаб (CureTech), также известный как CT-011, антитело, которое связывается с PD-1, в ходе клинических испытаний при диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме и множественной миеломе; авелумаб (Bavencio®, Pfizer/Merck KGaA), также известный как MSB0010718C), полноразмерное человеческое антитело IgG1 против PD-L1, в ходе клинических испытаний немелкоклеточного рака легкого, клеточной карциномы Меркеля, мезотелиомы, солидных опухолей, рака почки, рака яичников, рака мочевого пузыря, рака головы и шеи и рака желудка; или PDR001 (Novartis), ингибирующее антитело, которое связывается с PD-1, в клинических испытаниях немелкоклеточного рака легкого, меланомы, тройного негативного рака молочной железы и солидных опухолей на поздней стадии или метастатических солидных опухолей. Тремелиумаб (CP-675,206; AstraZeneca) представляет собой полноразмерное человеческое моноклональное антитело против CTLA-4, которое исследовали в ходе клинических испытаний по ряду показаний, включая: мезотелиому, колоректальный рак, рак почки, рак молочной железы, рак легкого и другие заболевания. мелкоклеточный рак легкого, аденокарциному протоков поджелудочной железы, рак поджелудочной железы, опухоль половых клеток, плоскоклеточный рак головы и шеи, гепатоцеллюлярную карциному, рак предстательной железы, рак эндометрия, рак с метастазами в печень, рак печени, крупноклеточную В-клеточную лимфому, рак яичников, рак шейки матки, метастатический анапластический рак щитовидной железы, уротелиальный рак, рак маточной трубы, множественную миелому, рак мочевого пузыря, саркому мягких тканей и меланому. AGEN-1884 (Agenus) представляет собой антитело

против CTLA4, которое исследуется в ходе клинических испытаний фазы 1 солидных опухолей на поздних стадиях (NCT02694822).

В некоторых вариантах ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор Т клеточного иммуноглобулина и муцина, содержащего белок-3 (TIM-3). Ингибиторы TIM-3, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают TSR-022, LY3321367 и MBG453. Ингибитор TSR-022 (Tesaro) представляет собой антитело против TIM-3, которое исследуется при солидных опухолях (NCT02817633). Ингибитор LY3321367 (Eli Lilly) представляет собой антитело против TIM-3, которое исследуется при солидных опухолях (NCT03099109). MBG453 (Novartis) представляет собой антитело против TIM-3, которое исследуется на поздних стадиях злокачественных новообразований (NCT02608268).

В некоторых вариантах ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор Т клеточного иммунорецептора с доменами Ig и ITIM или TIGIT, иммунного рецептора на определенных Т-клетках и NK-клетках. Ингибиторы TIGIT, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают BMS-986207 (Bristol-Myers Squibb), моноклональное антитело против TIGIT (NCT02913313); OMP-313M32 (Oncomed); и моноклональное антитело против TIGIT (NCT03119428).

В некоторых вариантах ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор гена-3 активации лимфоцитов (LAG-3). Ингибиторы LAG-3, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают BMS-986016, REGN3767 и IMP321. Ингибитор BMS-986016 (Bristol-Myers Squibb), антитело против LAG-3, исследуется при глиобластоме и глиосаркоме (NCT02658981). Ингибитор REGN3767 (Regeneron) также является антителом против LAG-3 и исследуется при злокачественных новообразованиях (NCT03005782). Ингибитор IMP321 (Immutep S.A.) представляет собой гибридный белок LAG-3-Ig, который исследуется при меланоме (NCT02676869); аденокарциноме (NCT02614833); и метастатическом раке молочной железы (NCT00349934).

Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают агонисты OX40. Агонисты OX40, которые исследуются в ходе клинических испытаний, включают PF-04518600/PF-8600 (Pfizer), агонистическое антитело против OX40, при метастатическом раке почки

(NCT03092856) и прогрессирующем раке и новообразованиях (NCT02554812; NCT05082566); GSK3174998 (Merck), агонистическое антитело против OX40, в ходе исследований рака фазы 1 (NCT02528357); MEDI0562 (Medimmune/AstraZeneca), агонистическое антитело против OX40, при солидных
5 опухолях на поздней стадии (NCT02318394 и NCT02705482); MEDI6469, агонистическое антитело против OX40 (Medimmune/AstraZeneca), у пациентов с колоректальным раком (NCT02559024), раком молочной железы (NCT01862900), раком головы и шеи (NCT02274155) и метастатическим раком предстательной железы (NCT01303705); и BMS-986178 (Bristol-Myers Squibb), агонистическое
10 антитело против OX40, при раке на поздней стадии (NCT02737475).

Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают агонисты CD137 (также называемые 4-1BB). Агонисты CD137, которые исследуются в ходе клинических испытаний, включают
15 утомилумаб (PF-05082566, Pfizer), агонистическое антитело против CD137, при диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме (NCT02951156) и при поздних стадиях рака и новообразованиях (NCT02554812 и NCT05082566); урелумаб (BMS-663513, Bristol-Myers Squibb), агонистическое антитело против CD137, при меланоме и раке кожи (NCT02652455), глиобластоме и глиосаркоме (NCT02658981).

20 Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают агонисты CD27. Агонисты CD27, которые исследуют в ходе клинических испытаний, включают варлилумаб (CDX-1127, Celldex Therapeutics), агонистическое антитело против CD27, при плоскоклеточном раке головы и шеи, карциноме яичников, колоректальном раке, почечно-клеточном
25 раке и глиобластоме (NCT02335918); лимфоме (NCT01460134); и глиоме и астроцитоме (NCT02924038).

Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают агонисты рецептора фактора некроза опухоли (GITR), индуцированного глюкокортикоидами. Агонисты GITR, которые исследуются в
30 ходе клинических испытаний, включают TRX518 (Leap Therapeutics), агонистическое антитело против GITR, при злокачественной меланоме и других злокачественных солидных опухолях (NCT01239134 и NCT02628574); GWN323 (Novartis), агонистическое антитело против GITR, при солидных опухолях и

лимфоме (NCT 02740270); INCAGN01876 (Incyte/Agenus), агонистическое антитело против GITR, при прогрессирующем раке (NCT02697591 и NCT03126110); МК-4166 (Merck), агонистическое антитело против GITR, при солидных опухолях (NCT02132754) и MEDI1873 (Medimmune/AstraZeneca), молекула агонистического гексамерного GITR-лиганда с доменом Fc IgG1 человека, при прогрессирующих солидных опухолях (NCT02583165).

Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают агонисты индуцируемых костимуляторов Т-клеток (ICOS, также известные как CD278). Агонисты ICOS, которые исследуют в ходе клинических испытаний, включают MEDI-570 (Medimmune), агонистическое антитело против ICOS при лимфомах (NCT02520791); GSK3359609 (Merck), агонистическое антитело против ICOS, в фазе 1 (NCT02723955); JTX-2011 (Jounce Therapeutics), агонистическое антитело против ICOS, в фазе 1 (NCT02904226).

Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают ингибиторы IgG-подобного рецептора гибели клеток (KIR). Ингибиторы KIR, которые исследуют в ходе клинических испытаний, включают лирилумаб (IPH2102/BMS-986015, Innate Pharma/Bristol-Myers Squibb), антитело против KIR, при лейкозах (NCT01687387, NCT02399917, NCT02481297, NCT02599649), множественной миеломе (NCT02252263) и лимфоме (NCT01592370); IPH2101 (1-7F9, Innate Pharma) при миеломе (NCT01222286 и NCT01217203); и IPH4102 (Innate Pharma), антитело против KIR, которое связывается с тремя доменами длинноцепочечного цитоплазматического хвоста (KIR3DL2) при лимфоме (NCT02593045).

Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают ингибиторы CD47 взаимодействия между CD47 и сигнальным регуляторным белком альфа (SIRPa). Ингибиторы CD47/SIRPa, которые исследуют в ходе клинических испытаний, включают ALX-148 (Alexo Therapeutics), антагонистический вариант (SIRPa), который связывается с CD47 и предотвращает опосредованную CD47/SIRPa передачу сигналов, в фазе 1 (NCT03013218); TTI-621 (SIRPa-Fc, Trillium Therapeutics), растворимый рекомбинантный гибридный белок, сконструированный при связывании N-концевого CD47-связывающего домена SIRPa с Fc-доменом IgG1 человека,

действует при связывании CD47 человека и предотвращении доставки макрофагам его сигнала «не съедать», и находится на стадии 1 клинических испытаний (NCT02890368 и NCT02663518); CC-90002 (Celgene), антитело против CD47, при лейкозах (NCT02641002); и Hu5F9-G4 (Forty Seven, Inc.) при колоректальных новообразованиях и солидных опухолях (NCT02953782), остром миелоидном лейкозе (NCT02678338) и лимфоме (NCT02953509).

Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают ингибиторы CD73. Ингибиторы CD73, которые исследуют в ходе клинических испытаний, включают MEDI9447 (Medimmune), антитело против CD73 при солидных опухолях (NCT02503774); и BMS-986179 (Bristol-Myers Squibb), антитело против CD73, при солидных опухолях (NCT02754141).

Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают агонисты белка-стимулятора генов интерферона (STING, также известного как трансмембранный белок 173 или TMEM173). Агонисты STING, которые исследуют в ходе клинических испытаний, включают МК-1454 (Merck), агонистический синтетический циклический динуклеотид, при лимфоме (NCT03010176); и ADU-S100 (MIW815, Aduro Biotech/Novartis), синтетический циклический динуклеотид-агонист, в фазе 1 (NCT02675439 и NCT03172936).

Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают ингибиторы CSF1R. Ингибиторы CSF1R, которые исследуют в ходе клинических испытаний, включают пексидартиниб (PLX3397, Plexxikon), низкомолекулярный ингибитор CSF1R, при колоректальном раке, раке поджелудочной железы, метастатическом и прогрессирующем раке (NCT02777710) и меланоме, немелкоклеточном раке легкого, плоскоклеточном раке головы и шеи, стромальной опухоли ЖКТ (GIST) и раке яичников (NCT02452424); и IMC-CS4 (LY3022855, Lilly), антитело против CSF-1R, при раке поджелудочной железы (NCT03153410), меланоме (NCT03101254) и солидных опухолях (NCT02718911); и BLZ945 (метиламид 4-[2((1R,2R)-2-гидроксициклогексиламино)бензотиазол-6-илоксил]пиридин-2-карбоновой кислоты, Novartis), ингибитор CSF1R для перорального применения при прогрессирующих солидных опухолях (NCT02829723).

Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают ингибиторы рецептора NKG2A. Ингибиторы рецептора NKG2A, которые исследуют в ходе клинических испытаний, включают монализумаб (IPH2201, Innate Pharma), антитело против NKG2A, при
5 новообразованиях головы и шеи (NCT02643550) и хроническом лимфоцитарном лейкозе (NCT02557516).

В некоторых вариантах ингибитор контрольной точки иммунного ответа выбран из ниволумаба, пембролизумаба, ипилимумаба, авелумаба, дурвалумаба, атезолизумаба или пидилизумаба.

Примеры

Общие способы синтеза

Следующие примеры предназначены для иллюстрации изобретения и их не следует рассматривать в качестве ограничивающих объем изобретения. Температуры приведены в градусах по Цельсию. Если не указано иное, все
15 процедуры упаривания проводили при пониженном давлении, предпочтительно примерно от 15 мм.рт.ст. до 100 мм.рт.ст. (= 20-133 мбар). Структуру конечных продуктов, промежуточных продуктов и исходных материалов подтверждали с использованием стандартных аналитических методов, например, микроанализа и спектроскопии, например, МС, ИК, ЯМР. Используемые сокращения являются
20 общепринятыми в данной области техники.

Все исходные материалы, структурные блоки, реагенты, кислоты, основания, растворители и катализаторы, использованные для синтеза соединений по настоящему изобретению, представляли собой либо
25 коммерческие материалы, либо их можно получить методами органического синтеза, известными специалистам в данной области техники (Houben-Weyl, 4-е изд., Methods of Organic Synthesis, Thieme, т. 21 (1952 г)). Кроме того, соединения по настоящему изобретению можно получать методами органического синтеза, известными специалистам в данной области, как описано в приведенных ниже примерах.

30 Все реакции проводили в атмосфере азота или аргона, если не указано иное.

Протонный ЯМР (^1H ЯМР) проводили в дейтерированном растворителе. В некоторых соединениях, описанных в данном контексте, один или несколько

сдвигов ^1H перекрываются с остаточными сигналами протеорастворителя, в экспериментальной части, представленной ниже, эти сигналы не показаны.

Табл. 2

Аналитические приборы

ЖХ-МС	Shimadzu UFLC MS: LCMS-2020 Agilent Technologies 1200 series MS: Agilent Technologies 6110 Agilent Technologies 1200 series MS: LC/MSD VL
ЯМР	BRUKER AVANCE III/400, Частота (МГц) 400.13, Ядро: ^1H , Число переходных режимов: 8
Препаративная ЖХ-МС	Gilson GX-281 системы: приборы GX-A, GX-B, GX-C, GX-D, GX-E, GX-F, GX-G и GX-H
ЖХ-МС	SHIMADZU GCMS-QP2010 Ultra
Аналитическая cSFC (хроматография со сверхкритической подвижной фазой)	Agilent Technologies 1290 Infinity
Препаративная cSFC (хроматография со сверхкритической подвижной фазой)	Waters SFC Prep 80

5

Для данных, полученных методом кислотной ЖХ-МС: ЖХ-МС регистрировали на приборе LC/MSD Agilent серии 1200 или Shimadzu LCMS2020, снабженным электрораспылительной ионизацией и квадрупольным детектором МС [ES+ve для получения MH^+] и Chromolith Flash RP-18e 25* 2,0 мм, элюент 0,0375 об.% ТФУ в воде (растворитель А) и 0,01875 об.% ТФУ в ацетонитриле (растворитель В). Другую ЖХ-МС регистрировали на приборе Agilent 1290 Infinity RRLC, соединенном с масс-детектором Agilent 6120. Использовали колонку ВЕН C18 50*2,1 мм, 1,7 мкм. Поток через колонку составлял 0,55 мл/мин, и в качестве подвижной фазы использовали (А) 2 мМ ацетат аммония в 0,1% муравьиной кислоте в воде и (В) 0,1% муравьиная кислота в ацетонитриле.

10

15

Для данных, полученных методом щелочной ЖХ-МС: ЖХ-МС регистрировали на приборе LC/MSD Agilent серии 1200 или Shimadzu LCMS2020, снабженным электрораспылительной ионизацией и квадрупольным детектором МС [ES+ve для получения MH^+] и колонками Xbridge C18, 2,1X50 мм, заполненными 5 мм диоксидом кремния, покрытым C18, или колонками Kinetex EVO C18 2,1X30 мм, заполненными 5 мм диоксидом кремния, покрытым

20

C18, элюент 0,05 об.% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ в воде (растворитель А) и ацетонитриле (растворитель В).

Аналитический метод, ВЭЖХ: ВЭЖХ проводили на приборе X Bridge C18 150×4,6 мм, 5 микрон. Скорость потока в колонке составляла 1,0 мл/мин, а в качестве подвижной фазы использовали (А) 0,1% раствор аммиака в воде и (В) 0,1% раствор аммиака в ацетонитриле.

Аналитический метод, препаративная ВЭЖХ: Соединение очищали на приборе Shimadzu LC-20AP, снабженном УФ-детектором. Использовали колонку X-BRIDGE C18 (250*19) мм, 5 мкм. Скорость потока через колонку составляла 16,0 мл/мин. В качестве подвижной фазы использовали (А) 0,1% раствор муравьиной кислоты в воде и (В) ацетонитрил. Щелочной используемый метод включал (А) 5 мМ раствор бикарбоната аммония и 0,1% раствор NH_3 в воде и (В) ацетонитрил или (А) 0,1% раствор гидроксида аммония в воде и (В) ацетонитрил. УФ-спектры регистрировали при 202 нм и 254 нм.

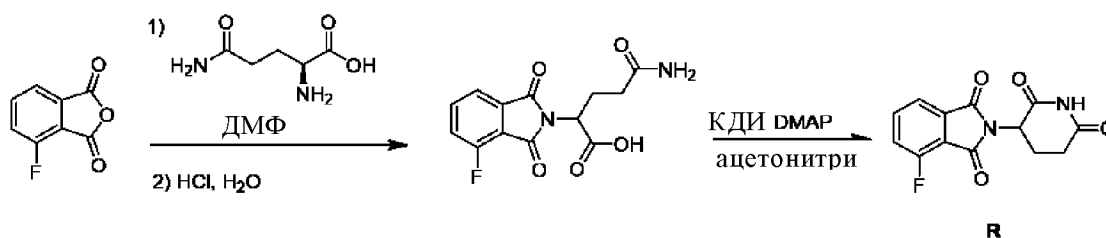
Метод ЯМР: Спектры ^1H ЯМР регистрировали с использованием зонда Bruker Ultra Shield Advance 400 МГц/5 мм (BBFO). Химические сдвиги выражали в част/млн.

Как было установлено в приведенных ниже примерах, в некоторых иллюстративных вариантах осуществления настоящего изобретения соединения получали согласно приведенным ниже общим методикам. Следует понимать, что несмотря на то, что в общих методиках описан синтез некоторых соединений по настоящему изобретению, ко всем соединениям, подклассам и видам каждого из соединений, описанных в данном контексте, можно применять описанные ниже общие способы и другие способы, известные специалистам в данной области техники.

Промежуточные соединения

2-(2,6-Диоксопиперидин-3-ил)-4-фторизоиндолин-1,3-дион

(промежуточное соединение R)



5-Амино-2-(4-фтор-1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентановая кислота

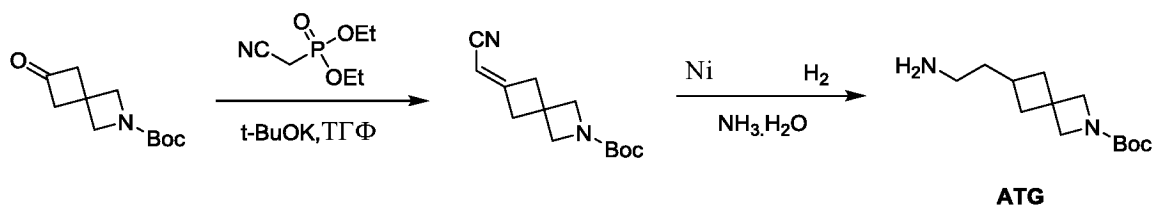
В раствор 4-фторизобензофуран-1,3-диона (25 г, 150 ммоль, CAS# 652-39-1) в ДМФ (100 мл) при перемешивании добавляли L-глутамин (22 г, 150 ммоль) при комнатной температуре. Полученную реакционную смесь нагревали до 90°C и перемешивали в течение 2 ч. Затем реакционную смесь упаривали при пониженном давлении, переносили в 4 н. водный раствор HCl и полученную смесь перемешивали в течение 36 ч при комнатной температуре. Затем твердый осадок отфильтровывали, промывали холодной водой и сушили при пониженном давлении, при этом получали 5-амино-2-(4-фтор-1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентановую кислоту в виде твердого вещества белого цвета (28 г, 63%). ЖХ-МС (ESI⁺) m/z 295 (M+H)⁺.

Стадия 2

2-(2,6-Диоксопиперидин-3-ил)-4-фторизоиндолин-1,3-дион

В раствор 5-амино-2-(4-фтор-1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)-5-оксопентановой кислоты (28 г, 95 ммоль) в ацетонитриле (200 мл) при перемешивании добавляли КДИ (19 г, 110 ммоль) и DMAP (0,14 г, 1,1 ммоль) при комнатной температуре. Полученную реакционную смесь затем нагревали до 90°C и перемешивали в течение 5 ч. Затем реакционную смесь упаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии на колонке с силикагелем (2% MeOH-DCM), при этом получали 2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-4-фторизоиндолин-1,3-дион в виде твердого вещества желтого цвета (12 г, 46%). ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ част./млн 11,16 (s, 1H), 7,98-7,93 (m, 1H), 7,80-7,76 (m, 2H), 5,19-5,14 (m, 1H), 2,94-2,85 (m, 1H), 1H), 2,63-2,54 (m, 2H), 2,09-2,04 (m, 1H).

Трет-бутиловый эфир 6-(2-аминоэтил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение ATG)



Стадия 1

Трет-бутиловый эфир 6-(цианометил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоновой кислоты

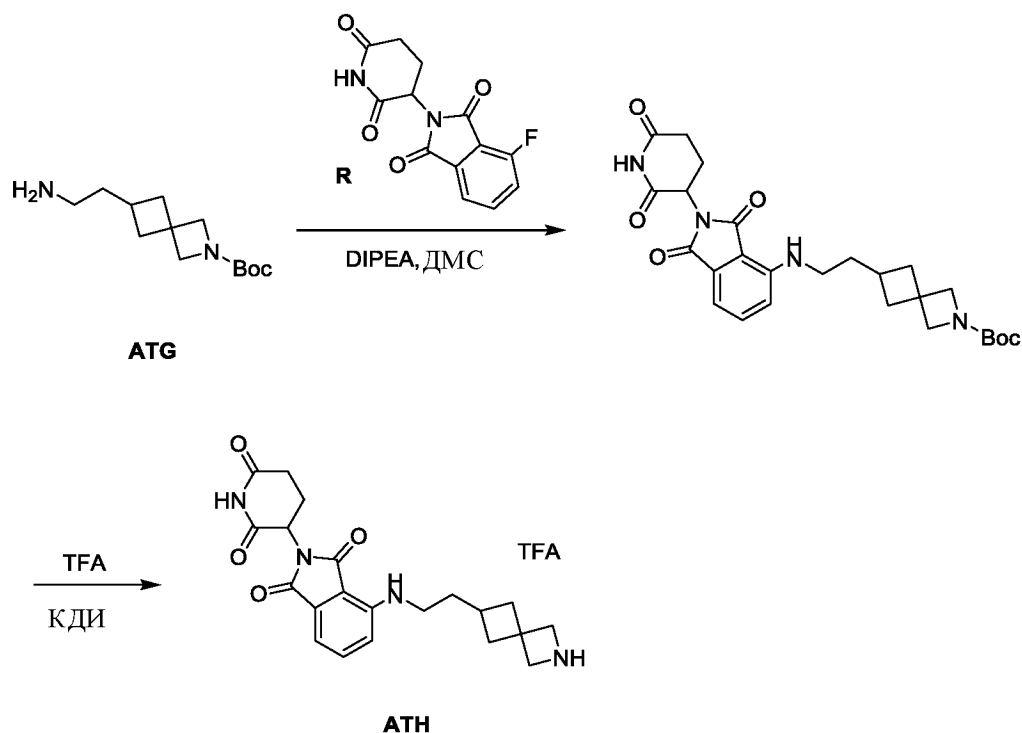
В раствор t-BuOK (3,98 г, 35,5 ммоль) в ТГФ (35 мл) по каплям добавляли раствор 2-диэтоксифосфорилацетонитрила (6,29 г, 35,5 ммоль) в ТГФ (70 мл) при 0 °С и реакционную смесь перемешивали при 25°С в течение 0,5 ч. Затем смесь охлаждали до 0 °С и добавляли раствор трет-бутилового эфира 6-оксо-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоксимой кислоты (5,00 г, 23,7 ммоль, CAS № 1147557-97-8) в ТГФ (35 мл) и реакционную смесь перемешивали при 25°С в течение 16 ч. Затем реакцию останавливали при добавлении воды (10 мл) и растворитель удаляли в вакууме, при этом получали остаток. Остаток очищали хроматографией на колонке с силикагелем (РЕ:ЕА (фосфатидилэтанламин:этилацетат) от 5:1 до 1:1), при этом получали указанное в названии соединение (4,10 г, выход 66%) в виде маслянистого вещества желтого цвета. ¹Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 5,55 (t, J = 2,4 Гц, 1H), 3,91 (d, J = 2,0 Гц, 4H), 3,17–3,01 (m, 4H), 1,37 (s, 9H) .

Стадия 2

15 Трет-бутиловый эфир 6-(2-аминоэтил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоновой кислоты

В раствор трет-бутилового эфира 6-(цианометил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоновой кислоты (4,10 г, 17,5 ммоль) в MeOH (80 мл) и NH₃·H₂O (8 мл) добавляли никель Ренея (1,50 г, 17,5 ммоль). Смесь дегазировали и продували газообразным H₂ 3 раза, а затем перемешивали при 25°С в атмосфере H₂ при давлении 50 фунт/кв. дюйм в течение 3 ч. Затем реакцию фильтровали через целит, отфильтрованный остаток промывали MeOH (3×5 мл) и фильтрат концентрировали в вакууме, при этом получали указанное в названии соединение (3,10 г, выход 66%) в виде маслянистого вещества желтого цвета. ¹Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 3,82 (d, J = 7,6 Гц, 4H), 2,47–2,00 (m, 5H), 1,79–1,67 (m, 2H), 1,46–1,38 (m, 2H), 1,36 (s, 9H).

25 4-[2-(2-Азаспиро[3.3]гептан-6-ил)этиламино]-2-(2,6-диоксо-3-пиперидил)изоиндолин-1,3-дион (промежуточное соединение АТН)



Стадия 1

Трет-бутиловый эфир 6-[2-[[2-(2,6-диоксо-3-пиперидил)-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил]амино]этил]-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоновой
 5 кислоты

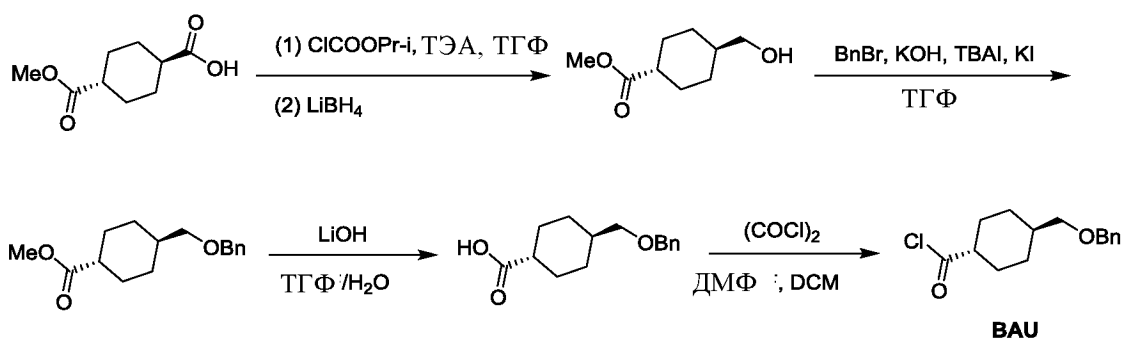
В раствор трет-бутилового эфира 6-(2-аминоэтил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоновой кислоты (3,00 г, 12,5 ммоль, промежуточное соединение ATG) и 2-(2,6-диоксо-3-пиперидил)-4-фторизоиндолин-1,3-диона (3,79 г, 13,7 ммоль, промежуточное соединение R) в ДМСО (30 мл) добавляли DIPEA (4,84 г, 37,5 ммоль). Смесь перемешивали при 130°C в течение 1 ч. Затем реакционную смесь разбавляли ЕА (150 мл), промывали водой (3 x 50 мл) и соевым раствором (100 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме, при этом получали неочищенный продукт, который очищали обращенно-фазовой хроматографией (условие 0,1% FA (фумаровая кислота)), при этом получали
 10
 15 указанное в названии соединение (3,20 г, выход 46%) в виде твердого вещества желтого цвета. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 11,10 (s, 1H), 7,59 (dd, J = 7,2, 8,4 Гц, 1H), 7,11–6,97 (m, 2H), 6,49 (t, J = 5,6 Гц, 1H), 5,06 (dd, J = 5,6, 12,8 Гц, 1H), 3,84 (s, 2H), 3,73 (s, 2H), 3,22 (q, J = 6,4 Гц, 2H), 2,91–2,83 (m, 1H), 2,65–2,54 (m, 2H), 2,32–2,22 (m, 2H), 2,16 (t, J = 7,6 Гц, 1H), 2,04 (d, J = 2,4 Гц, 1H), 1,86–1,78 (m, 2H), 1,65 (q, J = 7,2 Гц, 2H), 1,36 (s, 9H), ЖХ-МС (ESI⁺) m/z 497,3 (M+H)⁺.
 20

Стадия 2

4-[2-(2-Азаспиро[3.3]гептан-6-ил)этиламино]-2-(2,6-диоксо-3-пиперидил)изоиндолин-1,3-дион

В раствор трет-бутилового эфира 6-[2-[[2-(2,6-диоксо-3-пиперидил)-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил]амино]этил]-2-азаспиро[3.3]гептан-2-карбоновой кислоты (0,30 г, 604 мкмоль) в ДХМ (3 мл) добавляли ТФУ (2,31 г, 20,3 ммоль). Смесь перемешивали при 25°C в течение 1 ч. Затем реакционную смесь концентрировали в вакууме, при этом получали указанное в названии

(1R,4r)-4-((Бензилокси)метил)циклогексанкарбонилхлорид (промежуточное соединение ВАУ)



Стадия 1

(1R,4r)-Метилловый эфир 4-(гидроксиметил)циклогексанкарбоновой кислоты

В раствор 4-метоксикарбонилциклогексанкарбоновой кислоты (20,0 г, 107 ммоль, CAS# 15177-67-0) в ТГФ (200 мл) добавляли Et₃N (21,7 г, 215 ммоль, 29,9 мл) и изопропилкарбонхлоридат (19,7 г, 161 ммоль, 22,4 мл) при 0°C. Смесь перемешивали при 25°C в течение 1 ч. Затем смесь фильтровали и порциями добавляли LiBH₄ (11,7 г, 537 ммоль) при 0°C. Смесь перемешивали при 25°C в течение 4 ч. Затем реакцию останавливали при добавлении воды (500 мл) и экстрагировали этилацетатом (3×1000 мл). Органические слои сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток очищали хроматографией на колонке, при этом получали указанное в названии

соединение (9,70 г, выход 52%) в виде бесцветного маслообразного вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 3,67 (s, 3H), 3,47 (d, J = 6,0 Гц, 2H), 2,26 (tt, J = 3,6, 12,4 Гц, 1H), 2,06–1,99 (m, 2H), 1,88 (dd, J = 3,2, 13,6 Гц, 2H), 1,56–1,39 (m, 3H), 1,07–0,93 (m, 2H).

Стадия 2

(1R,4r)-Метиловый эфир 4-((бензилокси)метил)циклогексанкарбоновой кислоты

В раствор метилового эфира 4-(гидроксиметил)циклогексанкарбоновой
5 кислоты (9,70 г, 56,3 ммоль) в ТГФ (100 мл) добавляли КОН (4,74 г, 84,5 ммоль),
ТВАИ (4,16 г, 11,3 ммоль), KI (1,87 г, 11,3 ммоль) и VnBr (14,5 г, 84,5 ммоль, 10,0
мл). Смесь перемешивали при 25°C в течение 12 ч. Затем реакционную смесь
фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток очищали хроматографией
10 на колонке, при этом получали указанное в названии соединение (11,0 г, выход
74%) в виде бесцветного маслянистого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ
7,39–7,27 (m, 5H), 4,50 (s, 2H), 3,67 (s, 3H), 3,29 (d, J = 6,4 Гц, 2H), 2,25 (tt, J =
3,6, 12,4 Гц, 1H), 2,04-1,98 (m, 2H), 1,91 (ушир. dd, J = 3,6, 13,6 Гц, 2H), 1,71-1,61
(m, 1H), 1,45-1,42 (m, 2H), 1,08-0,94 (m, 2H).

Стадия 3

15 (1R,4r)-4-((Бензилокси)метил)циклогексанкарбоновая кислота

В раствор метилового эфира 4-(бензилоксиметил)циклогексанкарбоновой
кислоты (11,0 г, 41,9 ммоль) в ТГФ (100 мл), MeOH (20 мл) и H₂O (20 мл)
добавляли LiOH (5,02 г, 210 ммоль). Смесь перемешивали при 25°C в течение 12
ч. Затем реакционную смесь концентрировали в вакууме. Остаток разбавляли
20 водой (100 мл) и промывали РЕ (фосфатидилэтаноламин, 200 мл). Водную фазу
подкисляли HCl (водн., 1 М) до pH=4. Затем смесь экстрагировали ДХМ (3×200
мл). Органический слой сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в
вакууме, при этом получали указанное в названии соединение (10,1 г, выход
97%) в виде бесцветного маслообразного вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ
25 7,41–7,26 (m, 5H), 4,50 (s, 2H), 3,30 (d, J = 6,4 Гц, 2H), 2,28 (tt, J = 3,6, 12,4 Гц,
1H), 2,05 (dd, J = 2,8, 13,6 Гц, 2H), 1,92 (dd, J = 2,8, 13,6 Гц, 2H), 1,65-1,62 (m,
1H), 1,46 (dq, J = 3,6, 12,8 Гц, 2H), 1,11-0,95 (m, 2H).

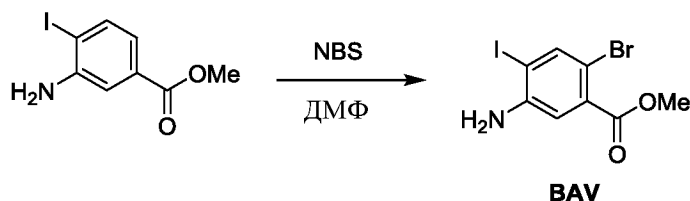
Стадия 4

(1R,4r)-4-((Бензилокси)метил)циклогексанкарбонилхлорид

30 В раствор 4-(бензилоксиметил)циклогексанкарбоновой кислоты (10,0 г,
40,3 ммоль) в ДХМ (100 мл) добавляли ДМФА (294 мг, 4,03 ммоль) и (COCl)₂
(7,67 г, 60,4 ммоль, 5,29 мл) порциями при 0°C. Смесь перемешивали при 0°C в
течение 2 ч. Затем реакционную смесь концентрировали в вакууме, при этом

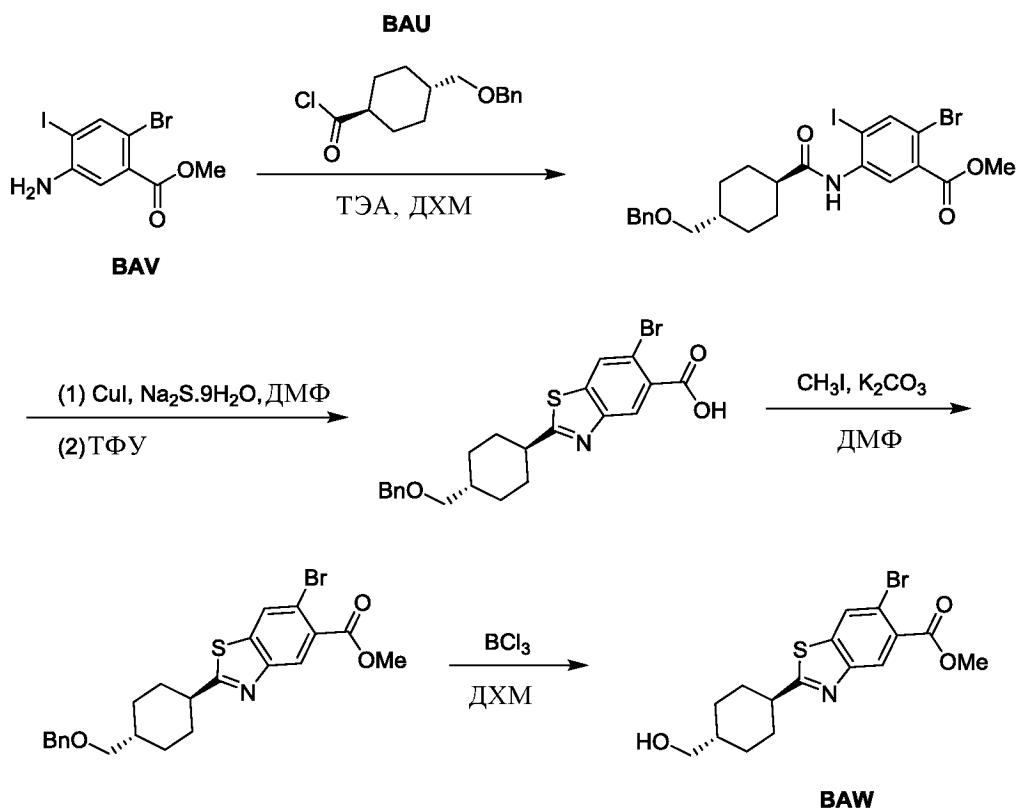
получали указанное в названии соединение (10,7 г, выход 99%) в виде маслообразного вещества желтого цвета.

Метилловый эфир 5-амино-2-бром-4-йодбензойной кислоты
(промежуточное соединение BAV)



5 В раствор метилового эфира 3-амино-4-йодбензойной кислоты (5,00 г, 18,1 ммоль, CAS# 412947-54-7) в ДМФ (25 мл) добавляли NBS (3,28 г, 18,4 ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч. Затем смесь выливали в 500 мл воды и получали твердое вещество. Смесь фильтровали, затем
10 отфильтрованный осадок промывали водой (3×50 мл) и сушили в вакууме, при этом получали указанное в названии соединение (6,00 г, выход 93%) в виде твердого вещества желтого цвета. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,84 (s, 1H), 7,13 (s, 1H), 5,66 (ушир.s, 2H), 3,81 (s, 3H).

15 Метилловый эфир 6-бром-2-[4-(гидроксиметил)циклогексил]-1,3-бензотиазол-5-карбоновой кислоты (промежуточное соединение BAW)



Стадия 1

Метилловый эфир 5-[[4-(бензилоксиметил)циклогексанкарбонил]амино]-2-бром-4-иодбензойной кислоты

В раствор метилового эфира 5-амино-2-бром-4-иодбензойной кислоты (707 мг, 1,9 ммоль, промежуточное соединение BAV) в ДХМ (10 мл) добавляли Et₃N (603 мг, 5,96 ммоль). Затем в реакционную смесь добавляли смесь 4-(бензилоксиметил)циклогексанкарбонилхлорида (530 мг, 1,99 ммоль, промежуточное соединение BAU) в ДХМ (20 мл). Смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч. Затем смесь концентрировали в вакууме. Остаток разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (3×100 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (50 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и удаляли большую часть растворителя. Затем твердое вещество осаждали, фильтровали, осадок сушили в вакууме, при этом получали указанное в названии соединение (660 мг, выход 56%) в виде твердого вещества белого цвета. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,76 (d, J = 1,6 Гц, 1H), 8,09 (d, J = 1,6 Гц, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,41–7,27 (m, 5H), 4,52 (d, J = 1,6 Гц, 2H), 3,92 (d, J = 1,6 Гц, 3H), 3,34 (dd, J = 1,6, 6,0 Гц, 2H), 2,35–2,24 (m, 1H), 2,12 (d, J = 13,2 Гц, 2H), 2,00 (d, J = 13,2 Гц, 2H), 1,77–1,58 (m, 3H), 1,19–1,05 (m, 2H).

Стадия 2

2-[4-(Бензилоксиметил)циклогексил]-6-бром-1,3-бензотиазол-5-карбоновая кислота

В раствор метилового эфира 5-[[4-(бензилоксиметил)циклогексанкарбонил]амино]-2-бром-4-иодбензойной кислоты (5,60 г, 9,55 ммоль) в ДМФ (50 мл) добавляли CuI (363 мг, 1,91 ммоль) и Na₂S·9H₂O (13,7 г, 57,3 ммоль). Смесь перемешивали при 80°C в течение 6 ч и затем охлаждали до комнатной температуры. Затем в смесь добавляли ТФУ (15,4 г, 135 ммоль) и смесь перемешивали при 25°C в течение 6 ч. Затем остаток разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали этилацетатом (3×100 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (100 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме, при этом получали указанное в названии соединение (4,00 г, выход 56%) в виде маслообразного вещества желтого цвета. ЖХ-МС (ESI⁺) m/z 462,1 (M+3)⁺.

Стадия 3

Метилловый эфир 2-[4-(бензилоксиметил)циклогексил]-6-бром-1,3-бензотиазол-5-карбоновой кислоты

В раствор 2-[4-(бензилоксиметил)циклогексил]-6-бром-1,3-бензотиазол-5-карбоновой кислоты (4,00 г, 8,69 ммоль) в ДМФ (20 мл) добавляли CH_3I (2,47 г, 17,3 ммоль) и K_2CO_3 (2,40 г, 17,3 ммоль). Смесь перемешивали при 15°C в течение 2 ч. Затем смесь фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток очищали проточной хроматографией на силикагеле (РЕ:ЕА

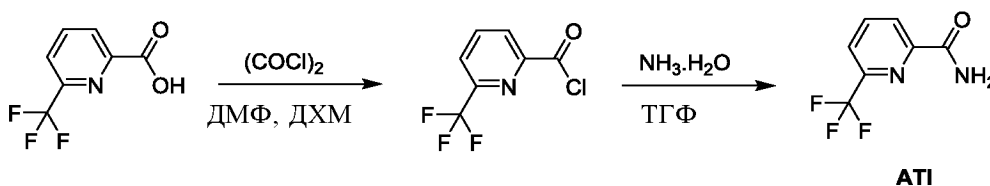
(фосфатидилэтаноламин:этилацетат) 3:1), при этом получали указанное в названии соединение (3,00 г, выход 72%) в виде твердого вещества белого цвета. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,31 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,31–7,21 (m, 5H), 4,44 (s, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,27 (d, $J = 6,0$ Гц, 2H), 2,97 (t, $J = 12,0$ Гц, 1H), 2,87 (s, 5H), 2,80 (s, 5H), 2,19 (d, $J = 12,4$ Гц, 2H), 1,95 (d, $J = 13,6$ Гц, 2H), 1,73–1,65 (m, 1H), 1,58 (q, $J = 12,8$ Гц, 2H), 1,20–1,07 (m, 2H).

Стадия 4

Метилловый эфир 6-бром-2-[4-(гидроксиметил)циклогексил]-1,3-бензотиазол-5-карбоновой кислоты

В раствор метилового эфира 2-[4-(бензилоксиметил)циклогексил]-6-бром-1,3-бензотиазол-5-карбоновой кислоты (2,00 г, 4,22 ммоль) в ДХМ (40 мл) добавляли BCl_3 (9,88 г, 84,3 ммоль). Смесь перемешивали при 25°C в течение 2 ч. Затем в смесь добавляли насыщенный водный раствор NaHCO_3 (50 мл), затем экстрагировали ДХМ (3×50 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором (100 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме, при этом получали указанное в названии соединение (1,60 г, выход 90%) в виде твердого вещества белого цвета. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,48 (s, 1H), 8,21–8,13 (m, 1H), 3,98 (s, 3H), 3,55 (d, $J = 6,0$ Гц, 2H), 3,25–3,12 (m, 1H), 2,42–2,26 (m, 2H), 2,09–1,98 (m, 2H), 1,78–1,62 (m, 3H), 1,29–1,16 (m, 2H).

6-(Трифторметил)пиридин-2-карбоксамид (промежуточное соединение АТI)



Стадия 1

6-(Трифторметил)пиридин-2-карбонилхлорид

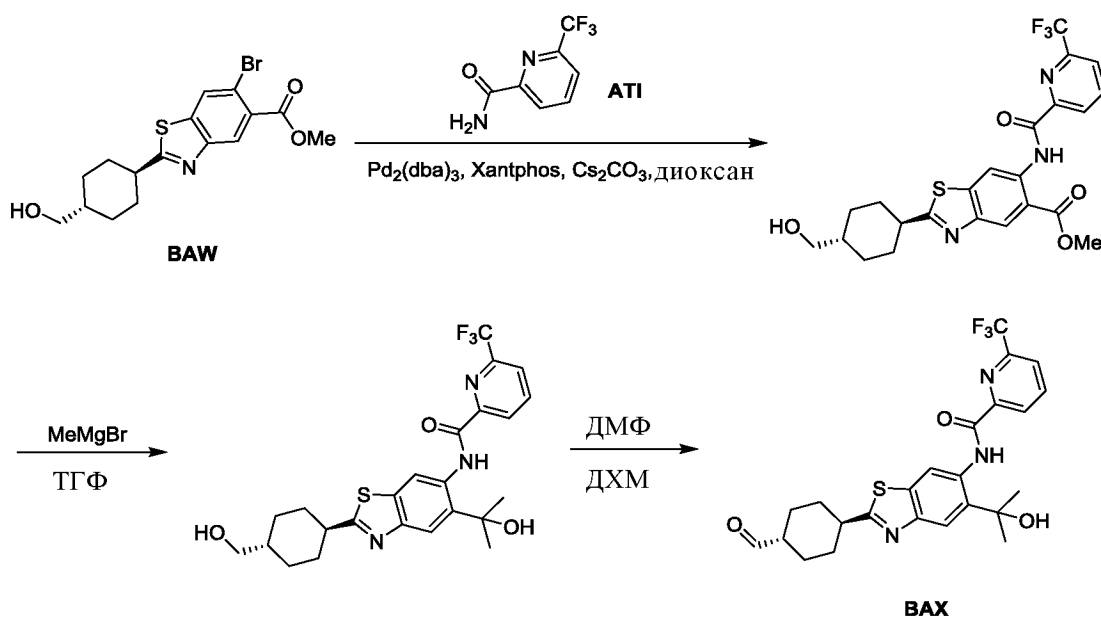
В смесь 6-(трифторметил)пиридин-2-карбоновой кислоты (21,0 г, 109 ммоль, CAS# 131747-42-7) и ДМФ (401 мг, 5,49 ммоль) в ДХМ (300 мл) добавляли (COCl)₂ (27,9 г, 219 ммоль) при 0°C. Смесь перемешивали при 25°C в течение 1 ч. Затем реакционную смесь концентрировали в вакууме, при этом получали указанное в названии соединение (22 г, выход 95%) в виде маслообразного вещества светло-желтого цвета.

Стадия 2

6-(Трифторметил)пиридин-2-карбоксамид

В раствор 6-(трифторметил)пиридин-2-карбонилхлорида (21,5 г, 102 ммоль) в ТГФ (100 мл) добавляли NH₃·H₂O (143 г, 1,03 моль, 158 мл, 25% раствор) при 0 °C. Смесь перемешивали при 25°C в течение 1 ч. Затем реакционную смесь концентрировали в вакууме для удаления ТГФ, а затем фильтровали, при этом получали осадок указанного в названии продукта (19 г, выход 90%), в виде твердого вещества светло-желтого цвета. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,35-8,24 (m, 2H), 8,08 (dd, J = 1,6, 6,8 Гц, 1H), 8,05-7,78 (m, 2H), ЖХ-МС (ESI⁺) m/z 191,0 (M+H)⁺.

N-[2-(4-Формилциклогексил)-5-(1-гидрокси-1-метилэтил)-1,3-бензотиазол-6-ил]-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамид (Промежуточное соединение BAX)



Стадия 1

Метилловый эфир 2-[4-(гидроксиметил)циклогексил]-6-[[6-(трифторметил)пиридин-2-карбонил]амино]-1,3-бензотиазол-5-карбоновой кислоты

В раствор метилового эфира 6-бром-2-[4-(гидроксиметил)циклогексил]-1,3-бензотиазол-5-карбоновой кислоты (300 мг, 780 мкмоль, промежуточное соединение ВAW) и 6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамида (163 мг, 858 мкмоль, промежуточное соединение АПІ) в диоксане (30 мл) добавляли Xantphos (90,3 мг, 156 мкмоль), Cs₂CO₃ (763 мг, 2,34 ммоль) и Pd₂(dba)₃ (71,4 мг, 78,1 мкмоль) при 25°C. Смесь перемешивали при 80°C в течение 12 ч в атмосфере азота. Затем смесь фильтровали через целит и концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией, при этом получали указанное в названии соединение (120 мг, выход 31%) в виде твердого вещества желтого цвета. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,82 (s, 1H), 9,44 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,50–8,46 (m, 1H), 8,45–8,38 (m, 1H), 8,23 (d, J = 7,8 Гц, 1H), 4,53–4,40 (m, 1H), 3,98 (s, 3H), 3,27 (t, J = 5,6 Гц, 2H), 3,08 (s, 1H), 2,19 (d, J = 13,0 Гц, 2H), 1,93–1,83 (m, 2H), 1,66–1,51 (m, 2H), 1,48–1,38 (m, 1H), 1,18–1,05 (m, 2H).

Стадия 2

N-[2-[4-(Гидроксиметил)циклогексил]-5-(1-гидрокси-1-метилэтил)-1,3-бензотиазол-6-ил]-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамида

В раствор метилового эфира 2-[4-(гидроксиметил)циклогексил]-6-[[6-(трифторметил)пиридин-2-карбонил]амино]-1,3-бензотиазол-5-карбоновой кислоты (120 мг, 243 мкмоль) в ТГФ (10 мл) добавляли MeMgBr (3 М, 405 мкл). Смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч. Реакцию останавливали при добавлении в смесь насыщенного раствора NH₄Cl (10 мл) при 0°C, затем разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (3×50 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (100 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме, при этом получали остаток. Остаток очищали препаративной ВЭЖХ (колонок: Phenomenex Synergi C18 150×25×10 мкм, подвижная фаза: [вода (0,225% фосфатидиламин)-ацетонитрил], В%: 44%-74%, 10 мин), при этом получали указанное в названии соединение (80,0 мг, выход 60%) в виде твердого вещества белого цвета. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,56 (s, 1H), 9,07 (s, 1H), 8,51–8,45 (m, 1H), 8,39 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 8,20 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 7,94–7,88 (m, 1H), 6,08 (s,

1H), 4,46 (t, J = 5,2 Гц, 1H), 3,28 (t, J = 5,6 Гц, 2H), 3,10– 3,00 (m, 1H), 2,19 (d, J = 11,2 Гц, 2H), 1,94–1,84 (m, 2H), 1,64 (s, 6H), 1,61–1,53 (m, 2H), 1,50–1,40 (m, 1H), 1,19-1,06 (m, 2H).

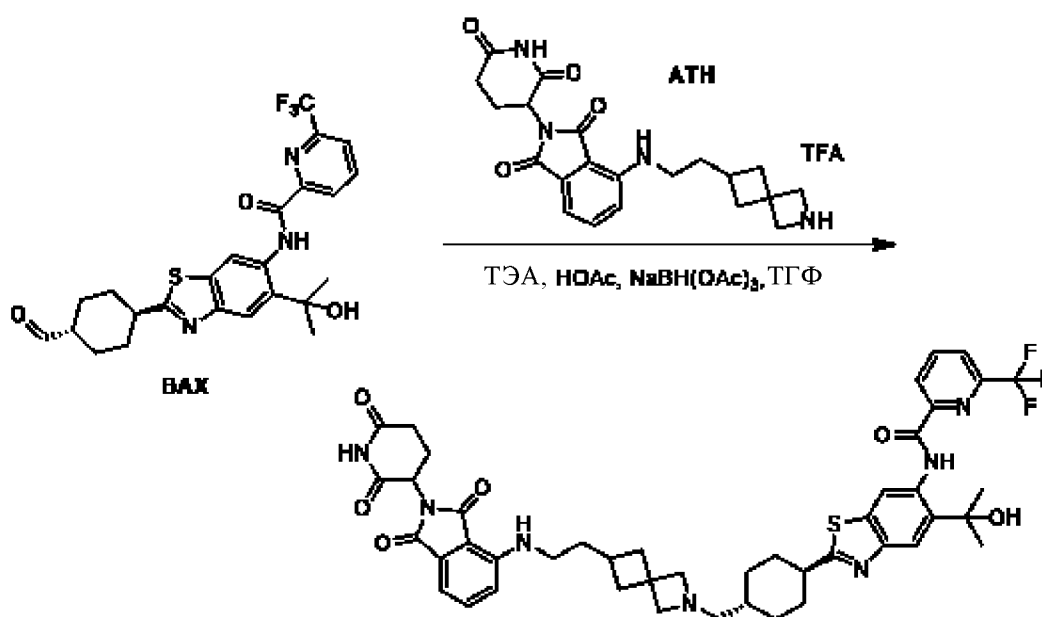
Стадия 3

5 N-[2-(4-Формилциклогексил)-5-(1-гидрокси-1-метилэтил)-1,3-бензотиазол-6-ил]-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамид

В раствор N-[2-[4-(гидроксиметил)циклогексил]-5-(1-гидрокси-1-метилэтил)-1,3-бензотиазол-6-ил]-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамида (50,0 мг, 101 мкмоль) в ДХМ (10 мл) добавляли DMP (диметилфталат) (51,5 мг, 121 мкмоль). Смесь перемешивали при 25°C в течение 2 ч. Затем к смеси добавляли 10 мл насыщенного раствора NaHCO₃ и 10 мл насыщенного раствора Na₂S₂O₃, затем экстрагировали ДХМ (3×50 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором (100 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме, при этом получали указанное в названии соединение (60,0 мг, выход 90%) в виде твердого вещества желтого цвета. ЖХ-МС (ESI⁺) m/z 492,2 (M+1)⁺.

Пример 1

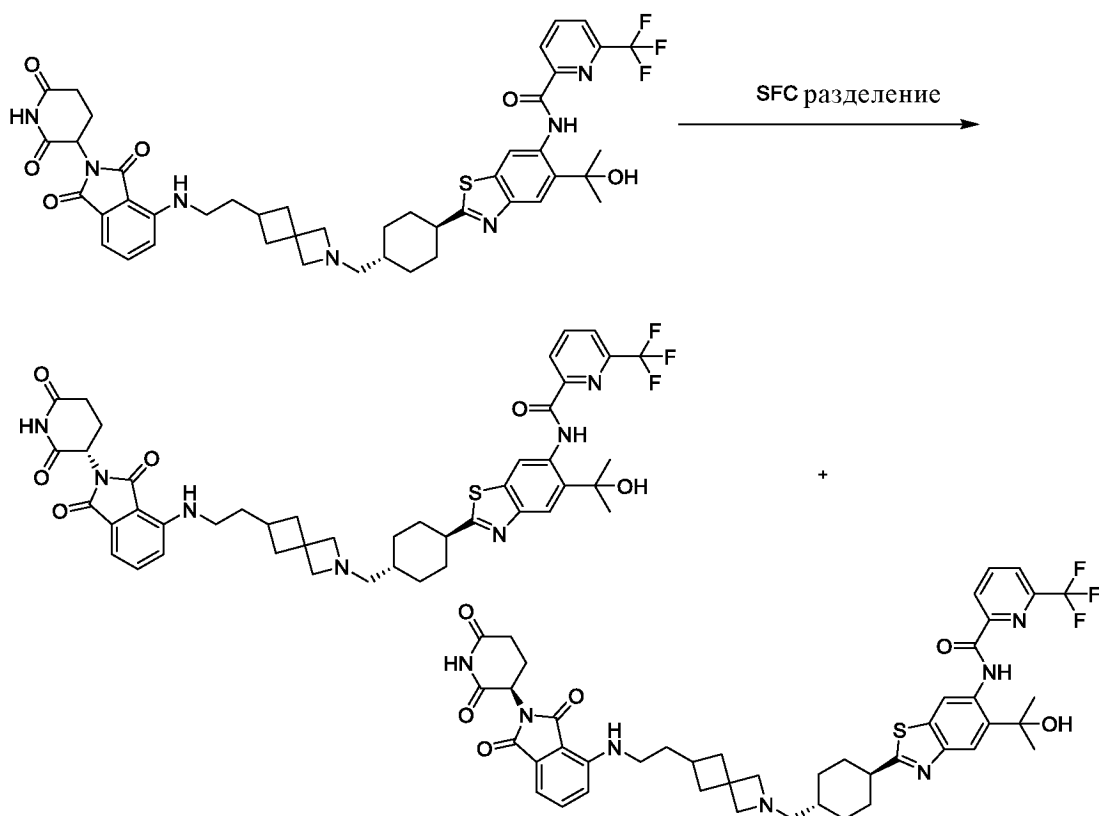
20 Синтез N-[2-[4-[[6-[2-[[2-(2,6-диоксо-3-пиперидил)-1,3-диоксо-изоиндолин-4-ил]амино]этил]-2-азаспиро[3.3]гептан-2-ил]метил]циклогексил]-5-(1-гидрокси-1-метил-этил)-1,3-бензотиазол-6-ил]-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамида (соединение А)



В раствор 4-[2-(2-азаспиро[3.3]гептан-6-ил)этиламино]-2-(2,6-диоксо-3-пиперидил)изоиндолин-1,3-диона (75,8 мг, 148 мкмоль, соль ТФУ, промежуточное соединение (АТН)) в ТГФ (2 мл) добавляли ТЭА (15,0 мг, 148 мкмоль), затем смесь перемешивали при 25°C в течение 10 мин. Затем в смесь добавляли НОАс (8,92 мг, 148 мкмоль) и N-[2-(4-формилциклогексил)-5-(1-гидрокси-1-метилэтил)-1,3-бензотиазол-6-ил]-6-трифторметил)пиридин-2-карбоксамид (73,0 мг, 148 мкмоль, промежуточное соединение ВАХ) и смесь перемешивали при 25°C в течение 20 мин, затем в смесь при 0°C добавляли NaBH(OAc)₃ (62,9 мг, 297 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали при температуре 0-25°C в течение 2 ч. Затем реакционную смесь останавливали при добавлении H₂O (1 мл) и концентрировали в вакууме. Остаток очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: Phenomenex Synergi C18 150×25×10 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225% FA (фосфатидиламин)-CAN (ацетонитрил)], В%: 31%-58%, 9 мин), при этом получали указанное в названии соединение (59,1 мг, выход 41%) в виде твердого вещества желтого цвета. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,54 (s, 1H), 11,09 (s, 1H), 9,06 (s, 1H), 8,49–8,44 (m, 1H), 8,38 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 8,19 (d, J = 8,0 Гц, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,58 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 7,10–6,99 (m, 2H), 6,47 (t, J = 5,6 Гц, 1H), 6,07 (s, 1H), 5,05 (dd, J = 5,6, 12,8 Гц, 1H), 3,54–3,47 (m, 2H), 3,25–3,18 (m, 4H), 3,06–2,99 (m, 1H), 2,93–2,83 (m, 1H), 2,63–2,56 (m, 1H), 2,54 (s, 3H), 2,30–2,21 (m, 2H), 2,30–2,21 (m, 3H), 2,06–1,99 (m, 1H), 1,88–1,77 (m, 4H), 1,68–1,61 (m, 8H), 1,58–1,49 (m, 2H), 1,45–1,36 (m, 1H), 1,15–1,02 (m, 2H); ЖХ-МС (ESI⁺) m/z 872,2 (M+H)⁺.

Пример 2

Синтез N-[2-[4-[[6-[2-[[2-[(3R)-2,6-диоксо-3-пиперидил]-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил]амино]этил]-2-азаспиро[3.3]гептан-2-ил]метил]циклогексил]-5-(1-гидрокси-1-метилэтил)-1,3-бензотиазол-6-ил]-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамида и N-[2-[4-[[6-[2-[[2-[(3S)-2,6-диоксо-3-пиперидил]-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил]амино]этил]-2-азаспиро[3.3]гептан-2-ил]метил]циклогексил]-5-(1-гидрокси-1-метилэтил)-1,3-бензотиазол-6-ил]-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамида



- N-[2-[4-[[6-[2-[[2-(2,6-диоксо-3-пиперидил)-1,3-диоксо-изоиндолин-4-ил]амино]этил]-2-азаспиро[3.3]гептан-2-ил]метил]циклогексил]-5-(1-гидрокси-1-метил-этил)-1,3-бензотиазол-6-ил]-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамид (600 мг, 688 мкмоль, пример I-3) разделяли с использованием SFC. Реагент разделяли с использованием хроматографии со сверхподвижной фазой (SFC) (колонок: DAICEL CHIRALPAK IA (250 мм × 30 мм, 10 мкм), подвижная фаза: [0,1%NH₃H₂OIPA], В%: 50%-50% 9,5 мин, 200 мин), при этом получали неочищенный пик 1 и пик 2. Неочищенный пик 1 и пик 2 очищали с использованием обращенной фазы (0,1% фосфатидиламин (FA)), при этом получали N-[2-[4-[[6-[2-[[2-[(3R)-2,6-диоксо-3-пиперидил]-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил]амино]этил]-2-азаспиро[3.3]гептан-2-ил]метил]циклогексил]-5-(1-гидрокси-1-метилэтил)-1,3-бензотиазол-6-ил]-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамид (204 мг, выход 64%, чистота 99%, соль FA) в виде твердого вещества желтого цвета: ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,54 (s, 1H), 11,09 (s, 1H), 9,06 (s, 1H), 8,49–8,44 (m, 1H), 8,38 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 8,18 (d, J = 8,0 Гц, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,62–7,54 (m, 1H), 7,06 (d, J = 8,4 Гц, 1H), 7,02 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 6,47 (t, J = 5,6 Гц, 1H), 6,22–5,96 (m, 1H), 5,08–5,02 (m, 1H), 3,25 (s 2H), 3,21 (d, J = 6,0 Гц, 2H), 3,15 (s, 2H), 3,05–2,98 (m, 1H), 2,94–2,82

(m, 1H), 2,63-2,51 (m, 3H), 2,34-2,29 (m, 2H), 2,24-2,11 (m, 5H), 2,07-1,98 (m, 1H), 1,89-1,80 (m, 2H), 1,80-1,72 (m, 2H), 1,65 (s, 1H), 1,63 (s, 6H), 1,58-1,47 (m, 2H), 1,40-1,27 (m, 1H), 1,13-0,98 (m, 2H), ЖХ-МС (ESI⁺) m/z 872,6 (M+H)⁺, и N-[2-[4-[[6-[2-[[2-[(3S)-2,6-диоксо-3-пиперидил]-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил]амино]этил]-2-азаспиро[3.3]гептан-2-ил]метил]циклогексил]-5-(1-гидрокси-1-метилэтил)-1,3-бензотиазол-6-ил]-6-(трифторметил)пиридин-2-карбоксамид (233 мг, выход 73%, чистота 99%, соль FA) в виде твердого вещества желтого цвета. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,54 (s, 1H), 11,20-10,94 (m, 1H), 9,06 (s, 1H), 8,50-8,44 (m, 1H), 8,38 (t, J = 7,6 Гц, 1H), 8,18 (d, J = 8,4 Гц, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,63-7,55 (m, 1H), 7,06 (d, J = 8,8 Гц, 1H), 7,02 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 6,47 (t, J = 6,0 Гц, 1H), 6,16-5,99 (m, 1H), 5,09-5,01 (m, 1H), 3,27 (s, 2H), 3,21 (d, J = 6,8 Гц, 2H), 3,17 (s, 2H), 3,05-2,98 (m, 1H), 2,94-2,83 (m, 1H), 2,64-2,51 (m, 3H), 2,32 (d, J = 6,4 Гц, 2H), 2,25-2,10 (m, 5H), 2,06-1,98 (m, 1H), 1,84 (d, J = 11,6 Гц, 2H), 1,80-1,73 (m, 2H), 1,68-1,64 (m, 1H), 1,63 (s, 6H), 1,58-1,46 (m, 2H), 1,43-1,28 (m, 1H), 1,13-1,00 (m, 2H), ЖХ-МС (ESI⁺) m/z 872,6 (M+H)⁺. Абсолютную конфигурацию стереоизомеров задавали произвольно.

Пример 3

Деградация MSD IRAK4 в клетках OCI-Ly10

Деградацию IRAK4 в клетках OCI-Ly10 количественно измеряли с использованием технологии Meso Scale Discovery. Клетки OCI-Ly10 высевали в 96-луночные планшеты (Corning 3799) с плотностью 300000 клеток на лунку в 100 мкл свежей среды. Затем в планшеты для анализа добавляли соединения с конечной максимальной концентрацией от 1 до 10 мкМ в серийных разведениях 1:3, всего 8 доз. Затем планшеты для анализа инкубировали от 4 до 24 ч при 37°C в атмосфере 5% CO₂. Планшеты для анализа затем центрифугировали в течение 5 мин и осадки клеток обрабатывали 100 мкл/лунку лизирующего буферного раствора RIPA (Boston BioProducts BP-115D), содержащего ингибиторы протеиназ. Для приготовления планшетов для анализа MSD (номер по каталогу Meso Scale Discovery L15XA-3) планшеты покрывали раствором 2 мкг/мл захватывающего антитела (мышинное антитело против IRAK4 [2H9], ab119942) в фосфатно-солевом буферном растворе (PBS) в количестве 40 мкл/лунку. Затем планшеты инкубировали в течение ночи при 4°C, промывали 3 раза 150 мкл/лунку буферного раствора TBST (Cell Signaling Technology, номер

по каталогу 9997S) и блокировали блокирующим буферным раствором 150 мкл/лунка (номер по каталогу Meso Scale Discovery R93BA-4). Затем лизаты клеток добавляли в планшеты для анализа MSD и планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем планшеты промывали 3 раза 150 мкл/лунку буферного раствора TBST и 25 мкл/лунку антитела для первичного детектирования (кроличьи антитела против IRAK4 [Y279], фирмы Abcam., номер по каталогу ab32511, 1 мкг/мл). Планшеты для анализа затем инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч, промывали 3 раза 150 мкл/лунку буферного раствора TBST и 25 мкл/лунку вторичного детектирующего антитела, добавляли антикроличьи антитела SULFO-TAG (антикроличьи антитела фирмы Meso Scale Discovery, номер по каталогу R32AB-1, 1 мкг/мл). Планшеты для анализа затем инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч, промывали 3 раза 150 мкл/лунку буферного раствора TBST и добавляли 150 мкл/лунку буферного раствора для считывания MSD (номер по каталогу Meso Scale Discovery R92TC-2). Затем планшеты анализировали с использованием ридера MSD (Meso Scale Discovery, модель Quick Plex SQ 120). Затем данные анализировали с использованием программного обеспечения Prism 7.0 фирмы GraphPad, и дозозависимую деградацию IRAK4 подбирали с использованием логистического уравнения с тремя параметрами для расчета DC₅₀.

Результаты деградации IRAK4 MSD в клетках OCI-LY10 для соединений по настоящему изобретению представлены в табл. 5. Буквенные коды для DC₅₀ IRAK4 включают: A (<0,05 мкМ), B (0,05 – 0,1 мкМ), C (0,1 – 0,5 мкМ), D (0,5 – 1,0 мкМ), и E (>1,0 мкМ).

Табл. 5

Результаты деградации MSD IRAK4 в клетках OCI-Ly10

Соединение	Деградация IRAK4 в клетках OCI-Ly10 через 4 ч: DC ₅₀ (мкМ)	Деградация IRAK4 в клетках OCI-Ly10 через 24 ч: DC ₅₀ (мкМ)
A	B	A
(R)-A	-	A
(S)-A	-	A

Пример 4

Анализ жизнеспособности клеток с использованием клеток OCI-Ly10 и SUDHL-2

Опосредованное соединением действие на жизнеспособность клеток OCI-Ly10 или SUDHL-2 количественно определяли с использованием набора для люминесцентного анализа жизнеспособности клеток CellTiter-Glo® фирмы Promega (номер по каталогу G7570) в соответствии с процедурами, рекомендованными фирмой-производителем. Краткое описание анализа: клетки OCI-Ly10 или SUDHL-2 высевали в 384-луночные планшеты (Grenier Bio-One, номер по каталогу 781080) с плотностью 10000 клеток на лунку. Затем в планшеты для анализа добавляли соединения с конечной максимальной концентрацией 10 мкМ в серийных разведениях 1:3, всего 9 доз. Конечную концентрацию ДМСО доводили до 0,2%. Планшеты для анализа инкубировали при 37 °С в течение 4 сут в атмосфере 5% CO₂. Затем планшеты для анализа выдерживали при комнатной температуре в течение 10 мин. Для определения жизнеспособности клеток в каждую лунку добавляли 30 мкл реагента CellTiter Glo, планшеты центрифугировали при 1000 об/мин в течение 30 с, инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин и анализировали при детектировании люминесценции с использованием многорежимного планшет-ридера (EnVision 2105, фирмы PerkinElmer). Затем данные анализировали с использованием программного обеспечения Prism 7.0 фирмы GraphPad, и кривые доза-ответ аппроксимировали с использованием логистического уравнения с тремя параметрами для расчета IC₅₀.

Анализ жизнеспособности клеток CTG: результаты с использованием клеток OCI-Ly10 и SUDHL-2 для соединений по настоящему изобретению представлены в табл. 6. Буквенные коды для IC₅₀ IRAK4 включают: А (<0,05 мкМ), В (0,05 – 0,1 мкМ), С (0,1 – 0,5 мкМ), D (0,5 – 1,0 мкМ), и Е (>1,0 мкМ).

Табл. 6

Результаты анализа жизнеспособности клеток CTG

Соединение	Анализ жизнеспособности клеток CTG - OCI-Ly10: IC ₅₀ (мкМ)	Анализ жизнеспособности клеток CTG - SUDHL-2: IC ₅₀ (мкМ)
А	А	-

(R)-A	A	-
(S)-A	A	-

Пример 5

Количественная оценка деградации Ikaros и Aiolos

Деграцию Ikaros (белковый продукт гена IKZF1) и Aiolos (белковый продукт гена IKZF3) определяли количественным иммуноблоттингом следующим образом. Клетки OCI-Ly10, 2×10^6 клеток/лунку, обрабатывали перечисленными концентрациями деструкторов IRAK4 или контрольных соединений в 6-луночных планшетах в течение 6 ч. Клетки собирали, промывали холодным буферным раствором PBS, лизировали в буферном растворе RIPA (Boston BioProducts BP-115D), содержащем смесь ингибиторов протеазы/фосфатазы (Roche 05892791001/Roche 04906837001) и центрифугировали при 13000 об/мин в течение 20 мин для осаждения нерастворимого материала. Фракцию супернатанта разводили в буферном растворе для нанесения образцов SDS-PAGE (Beyotime Bio P0015) и 20 мкл каждого образца разделяли методом ЭФ в гелях ПААГ 4-12% Bis-Tris SDS-PAGE (Novex, WG1402BOX). Разделенные в гелях образцы переносили на нитроцеллюлозные мембраны методом мокрого электропереноса при 250 мВ в течение 1,5 ч. Мембрану блокировали блокирующим буферным раствором LICOR (LI-COR, 927-50000) в течение 1 ч, трижды промывали буферным раствором TBST (CST#9997S) в течение 5 мин каждый и инкубировали с первичными антителами, приготовленными в блокирующем буферном растворе, содержащем 0,1% Tween-20 (Solarbio, P8220) при 4 °C в течение ночи. Антитело Ikaros представляло собой кроличьи моноклональные антитела D6N9Y (CST#14859) в разведении 1:1000. Антитело Aiolos представляло собой кроличье моноклональное антитело D1C1E (CST#15103) в разведении 1:1000. Сигнал нормировали по мышинному моноклональному анти-бета-актину 8H10D10 (CST#3700), используемому в разведении 1:10000. После инкубации в первичных антителах мембраны трижды промывали раствором TBST в течение 5 мин, инкубировали с флуоресцентно мечеными вторичными антителами к IgG кролика (Licor, 926-32211) в разведении 1:5000, антимышиным IgG (LI-COR, 926-68070) в разведении 1:5000, в течение 1 ч при комнатной температуре.

После вторичной инкубации мембраны трижды промывали раствором TBST в течение 5 мин каждый раз и считывали на сканере LICOR Odyssey. Данные представляли в виде сигнала для Ikaros или Aiolos относительно сигнала для актина и нормировали на контрольный образец, обработанный ДМСО.

5 Результаты анализа деградации Ikaros и Aiolos в клетках OCI-Ly10 для соединений по настоящему изобретению представлены в табл. 7. Буквенные коды DC₅₀ для Ikaros и Aiolos включают: A (<0,05 мкМ), B (0,05 – 0,1 мкМ), C (0,1 – 0,5 мкМ), D (0,5 – 1,0 мкМ), и E (>1,0 мкМ).

Табл. 7

10 Результаты анализа деградации Ikaros и Aiolos

Соединение	Деградация Ikaros в клетках OCI-Ly10: DC ₅₀ (мкМ)	Деградация Aiolos в клетках OCI-Ly10: DC ₅₀ (мкМ)
A	A	A

На фиг. 8 представлены диаграммы рассеяния глубокой протеомики, свидетельствующие о деградации субстратов IRAK4 и IMiD в клетках OCI-Ly10 с использованием соединения А. Передачу сигналов IFN типа 1 активировали в клетках OCI-Ly10 MYD88^{MT} DLBCL. Зависимость деградации от времени свидетельствует об иерархической деградации субстрата и быстрой деградации субстратов IMiD, при этом деградация составляла >80% IRAK4 в течение 16-24 ч после обработки.

Пример 6

20 Исследования ксенотрансплантатов опухолей

Культура клеток: опухолевые клетки OCI-LY10 поддерживали в виде суспензии в среде RPMI1640 с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина при 37°C в атмосфере 5% CO₂. Опухолевые клетки стандартно дважды в неделю пересевали при обработке смесью трипсин-ЭДТА. Клетки, растущие в фазе экспоненциального роста, собирали и подсчитывали для инокуляции опухоли.

Животные: использовали самок C.B.17 SCID, 6-8 недель, массой тела приблизительно 16-18 г. Животных содержали и кормили в соответствии с протоколами IACUC.

Перевивание опухоли: Каждой мышце перевивали подкожно в правый бок опухолевые клетки OCI-LY10 (10×10^6) в 0,2 мл PBS с матригелем для развития опухоли. Лечение начинали, когда размеры опухоли достигали приблизительно $150-450 \text{ мм}^3$ для исследований.

5 Распределение по группам: Перед началом лечения всех животных взвешивали и измеряли объемы опухолей. Поскольку объем опухоли может влиять на показатели ФК/ФД соединения, мышцей рандомизировали с использованием процедуры рандомизации на основе программы Excel, выполняющей стратифицированную рандомизацию на основе их объемов
10 опухоли.

Наблюдение: После перевивания опухолей у животных ежедневно оценивали заболеваемость и смертность. В ходе стандартного наблюдения у животных оценивали любое влияние роста опухоли и лечения на поведение, такое как подвижность, потребление корма и воды, увеличение/потеря массы
15 тела, исчезновение блеска глаз/шерсти и любые другие аномалии. Подробно регистрировали смертность и наблюдаемые клинические признаки для отдельных животных.

Сбор данных: Объемы опухолей измеряли в двух измерениях с использованием штангенциркуля, и объемы выражали в мм^3 по формуле: « $V = (L \times W \times W)/2$ », где V означает объем опухоли, L означает длину опухоли (самый
20 длинный размер опухоли), а W означает ширину опухоли (самый длинный размер опухоли, перпендикулярный L).

После завершения экспериментов: В предварительно определенные моменты времени, основанные на дизайне исследования, животных гуманно
25 умерщвляли с использованием CO_2 . Кровь отбирали с использованием пункции сердца для выделения плазмы, любую остаточную опухоль удаляли и делили на 2 порции, одну (минимальную) для конечной обработки соединением и другую для определения IRAK4 и актина. Соединение определяли в опухоли и плазме с использованием ЖХ/МС с калиброванными стандартами.

30 Киназу 4, ассоциированную с рецептором интерлейкина-1 (IRAK4), количественно определяли в ксенотрансплантатных опухолях OCI-LY10 человека вместе со спленоцитами мыши и мононуклеарными клетками периферической крови (PBMC) с использованием высокоэффективной

жидкостной хроматографии в комбинации с масс-спектрометрией (UPLC-
MC/MC). Концентрации IRAK4 нормировали по концентрациям актина в
соответствующих образцах. Опухоли, спленоциты и PBMC лизировали в
реагенте для экстракции тканевых белков (T-PER, ThermoFisher). Образцы
5 центрифугировали при 10000 об/мин в течение 10 мин. Супернатант (клеточный
лизат) переносили в другую пробирку. Клеточные лизаты денатурировали,
восстанавливали и алкилировали йодацетамидом. Алкилированные образцы
обрабатывали трипсином, при этом получали пептид IRAK4 LAVAIK и
актиновый пептид GYSFTTTAER. Эти пептиды являются уникальными и
10 специфичными для IRAK4 и актина, соответственно, в клетках и тканях
человека, крысы и мыши из-за консервативной последовательности у этих
видов.

Концентрации сигнатурных пептидов количественно определяли с
использованием чувствительного и специфически направленного метода ЖХ-
15 MC/MC. Соответствующие меченые стабильными изотопами пептиды со
сдвигом массы (LAV(d8)AIK и GYSF(d8)TTTAE(d6)R) использовали в качестве
внутренних стандартов (IS). Калибровочные стандарты получали в день анализа
при разбавлении синтетических пептидов LAVAIK и GYSF(d8)TTTAER 0,1%
муравьиной кислотой в водном растворе ацетонитрила 90/10 (об./об.). Аликвоты
20 стандартов и исследуемых образцов наносили на 96-луночный планшет и
смешивали с раствором с известным количеством внутреннего стандарта IS.
Планшет с образцом накрывали термофольгой.

Уровни сигнатурных пептидов (LAVAIK, GYSFTTTAER) количественно
определяли с использованием ВЭЖХ-МС/МС. Образцы наносили с
25 использованием платформы высокоэффективного жидкостного хроматографа
Shimadzu (UPLC). Подвижная фаза А представляла собой 0,1% муравьиную
кислоту в воде. Подвижная фаза В представляла собой 0,1% муравьиную
кислоту в смеси ацетонитрил/вода 90:10 (об./об.). Для обнаружения и
количественного определения аналитов использовали систему SCIEX TripleTOF
30 6600 LC MS/MS. Интенсивность аналитов и IS определяли при интегрировании
выделенных площадей пиков ионов с использованием программного
обеспечения Analyst и MultiQuant 3.0. Калибровочные кривые получали при
построении графиков отношения площади пика аналита к IS в зависимости от

концентрации. Модель калибровочных кривых была линейной при взвешивании $1/x^2$. Рабочий диапазон анализа составлял 0,02-50 нг/мл для LAVAИК и 1-2500 нг/мл для GYSFTTTAER в лизате расщепленных клеток. Измеренные уровни пептидов корректировали для обработки образца и преобразовывали в фактические концентрации белка в нг/мг общего белка клеточного лизата. Концентрации IRAK4 нормировали по образцам по концентрации актина.

На фиг. 2 показано, что соединение А приводит к сильной регрессии на ксенотрансплантатах опухолей OCI-Ly10. Для соединения А наблюдали регрессию при дозе 3 мг/кг х 21 день в OCI-Ly10, при более высоких дозах (≥ 10 мг/кг) наблюдали более быструю и полную регрессию. Направленным воздействием для эффективности в клетках OCI-Ly10 является устойчивое состояние $C_{24ч}$ 10-80 нМ на основе дозы 3 мг/кг или 10 мг/кг. Быстрые регрессии связаны со значительной деградацией как субстратов IRAK4, так и IMiD. В табл. 8 и табл. 9 указаны полученные параметры ФК и ФД.

Табл. 8

Параметры ФК соединения А/ФД опухоли после дозирования в течение 5 сут

Доза (мг/кг)	Плазма $C_{24ч}$ (пкМ)	Селезенка $C_{24ч}$ (пкМ)	Опухоль $C_{24ч}$ (пкМ)	IRAK4 (% деград.)	Aiolos (% деград.)	TGI (28D)	
3	0,01	0,5	0,43	16	49	91%	4PR, 1SD
10	0,08	4,1	4,2	75	91	99,9%	5CR
30	0,64	59,0	64	83	97	99,9%	5CR

TGI (ингибирование роста опухоли) = $(1-T/C)100$, PR (частичная ответная реакция) $\geq 50\%$ уменьшения размеров опухоли, CR (полная ответная реакция) $>95\%$ уменьшения размеров опухоли от начального объема

Табл. 9

Фармакокинетические параметры соединения А, 10 мг/кг перорально

Параметры ФК	Единицы измерения	РО
$T_{1/2}$	ч	9,35
$T_{\text{макс}}$	ч	8
$C_{\text{макс}}$	мкМ	0,180
$C_{24ч}$	мкМ	0,055
$AUC_{\text{кон}}$	мкМ*ч	2,83

F	%	19,0
---	---	------

На фиг. 3 представлены результаты минимальной эффективной дозы для схем дозирования QW и BIW для соединения А в ксенотрансплантатах опухолей OCI-Ly10 и эффективность прерывистого введения *in vivo*. Соединение А индуцирует регрессию при введении по схеме BIW каждые 3 недели, а внутривенное и пероральное введение (PO) оказались в равной степени активными при введении по схемам QW и BIW. Для дозирования BIW необходимо меньшее еженедельное введение по сравнению с QW.

На фиг. 4 показано, что соединение А оказывает значительное воздействие на ткани по сравнению с плазмой и устойчивый ФД-эффект после однократной дозы. Для опухоли наблюдали относительно более медленный клиренс по сравнению с селезенкой, для которой C_L аналогичен плазме. Эффективность соответствовала значительной деградации IRAK4 и Ikaros, при этом деградация Ikaros происходила быстрее по сравнению с IRAK4. Аналогичные данные наблюдали для ксенотрансплантатов SUDHL2, который получали в основном, как описано выше, с использованием OCI-LY10.

В табл. 10 перечислены результаты ксенотрансплантатов опухолей OCI-Ly10 для различных схем введения доз.

Активность OCI-Ly10 при различных схемах введения доз

Активность	Доза (мг/кг)	ROA	Схема введения	TGI (D14)	CR	PR	SD	PD	Примечания
Недостаточная	5	PO (перорально)	D1-4, 15-18	62			6	1	Наблюдался рост всех опухолей после D14
	5	PO	D1-7	75		2	5		Наблюдался рост всех опухолей после D14
	15	PO	D1,8,15	83			5		Для 3/5 опухолей наблюдалась некоторая регрессия, для 2/5 наблюдался незначительный рост
Минимальная	10	PO	D1,2,8,9	88		2	3		Для всех опухолей наблюдалась регрессия и тенденция к уменьшению

									размеров
	3	IV (внутривенно)	D1,2,8,9	89		3	2		Для всех опухолей наблюдалось уменьшение размеров и тенденция к уменьшению размеров
	3	IV	D1,4,8,11	89		3	2		Для всех опухолей наблюдалось уменьшение размеров и тенденция к уменьшению размеров
	10	PO	D1-3	82		5	1	1	Для всех SD наблюдалась некоторая регрессия
	10	PO	D1,4,8,11	85		5	2		6 PR и 1 при PR в день D18, для опухолей наблюдалось уменьшение размеров
	10	PO	D1-4, 15-18	87		7			Для всех опухолей наблюдалось значительное уменьшение размеров начиная с D10
	15	PO	D1,2,8,9	91		7			Очень активные: Для опухолей наблюдалось значительное уменьшение размеров начиная с D10
	6	IV	D1,2,8,9	94		5			
	12	IV	D1,8,	94		5			Для всех опухолей наблюдалась регрессия и тенденция к уменьшению размеров
Оптимальная	30	PO	D1,8,15	96	2	5			
	10	PO	D1-7	96	1	6			Исходные данные
	20	PO	D1-3	96	1	6			
	10	PO	D1-7	97	1	6			

	60	PO	D1	97	2	5			
	30	PO	D1,4,8	97	3	4			Для опухолей наблюдалась регрессия в день D18 (5CR, 2PR)
	30	PO	D1,2	99	4	3			6 CR в день D18
	30	PO	D1-3	99	4	3			7 CR в день D18
	45	PO	D1,2	99	4	3			7 CR в день D18

POA (способ введения), TGI (ингибирование роста опухоли), PR (частичная ответная реакция), CR (полная ответная реакция), SD (стабильное заболевание), PD (прогрессирующее заболевание).

5 На фиг. 9 показаны регрессии в моделях ксенотрансплантатов (PDX), полученных от пациентов с MYD88 мутацией, с использованием соединения А. В табл. 10А представлены результаты моделей PDX.

Табл. 10А

Результаты PDX.

Модель	MYD88	CD79B	TNFAIP3	Другие	Соед. А (%TGI)
LY14019	L265P	MT	MT		100
LY2264	L265P	MT		IRF4	100
LY2298	L265P	MT		BCL2/BCL6	90
LY12699	L265P	MT			87
LY2345	WT		MT		70
LY2301	WT				30
LY0257	L265P			BCL2/BCL6/IKZF3	0

10 Для соединения А, введенного пероральным способом, наблюдалось значительное ингибирование роста опухоли (>85% TGI) в моделях 4/5 MYD88-мутантного DLBCL PDX. Активность наблюдали независимо от совместных мутаций, активирующих пути NFkB и IRF4. Невосприимчивая модель MYD88^{MT}

15 LY0257 содержит мутацию в Aiolos и не является чувствительной к леналидомиду. Меньшее ингибирование роста опухоли, которое наблюдали в MYD88-PDX дикого типа, находится в соответствии с IMiD-активностью соединения А.

Пример 7

Исследование безопасности нечеловекообразных приматов

7.1 Однократное болюсное введение внутривенным способом самцам и самкам яванских макак

Табл. 7-1-1

Дизайн исследования

№ группы	Число животных	Лечение						
		Исследуемое соединение	Доза	Объем дозы	Требуемая концентрация дозы (мг/мл)	Носитель	Способ введения	Примечания
			(мг/кг)	(мл/кг)				
1	1 самец + 1 самка	Соединение А	0	1	0	10%HPBCD:2% TPGS	Внутривенный болюсный	Контрольная группа, Одна доза в день 1 и день 2
2	1 самец + 1 самка	Соединение А	1	1	1	10%HPBCD:2% TPGS	Внутривенный болюсный	Одна доза в день 1
3	2 самца + 2 самки	Соединение А	2,5	1	2,5	10%HPBCD:2% TPGS	Внутривенный болюсный	Одна доза в день 1
4	1 самец + 1 самка	Соединение А	2,5	1	2,5	10%HPBCD:2% TPGS	Внутривенный болюсный	Одна доза в день 1 и день 2
5	1 самец + 1 самка	Соединение А	5	1	5	10%HPBCD:2% TPGS	Внутривенный болюсный	Одна доза в день 1
Примечание: 10% HP-b-CD означает 10% гидроксипропил-β-циклодекстрин								

Табл. 7-1-2

Сбор образцов

Группа	Доза	№ животного	Время сбора образцов (ч)													
	(мг/кг)		Предв. доза ^{a, b}	0,5	1	2	4	8	12	24 ^a (День2)	48 (День3)	72 (День4)	96 (День5)	120 (День6)	168 ^{a, b} (День8)	День14 ^b
1	0	1001, 1501	PD, CP	--	--	--	--	--	--	PD	CP	--	--	--	PD, CP	CP
2	1	2001, 2501	PD, CP	PK	PK	PK	PK	PK	PK	PK, PD,	PK CP	PK	PK	PK	PK, PD, CP	CP
3	2.5	3001, 3501 3002, 3502	PD, CP	PK	PK	PK	PK	PK	PK	PK, PD,	PK CP	PK	PK	PK	PK, PD, CP	CP

5	5	5001, 5501	PD, CP	PK	PK	PK	PK	PK	PK	PK, PD, PD,	PK CP	PK	PK	PK	PK, PD, CP	CP
---	---	------------	--------	----	----	----	----	----	----	----------------	-------	----	----	----	---------------	----

а: Дополнительную кровь отбирали перед введением дозы, через 24 ч, в день 8, для получения лизата цельной крови.

б: Дополнительную кровь отбирали перед введением дозы, через 48 ч, в день 8 и день 14, для гематологических, клинических и биохимических анализов.

Гр.	Доза	№ жив.	Время сбора образцов (ч)																				
	(мг/кг)		День 1 - предв. доза ^{a,b}	День 1 – 0,5ч	День 1 - 1ч	День 1 - 2ч	День 1 - 4ч	День 1 - 8ч	День 1 - 12ч	День 1- 24ч ^{a,b} (День)	День 2- 0,5ч	День 2-1ч	День 2-2ч	День 2-4ч	День 2-8ч	День 2- 12ч	День2- 24ч ^a (день3)	День2- 48ч ^b (День4)	День2- 96ч (День6)	День2- 120 ч (День7)	День2- 144 ч ^{a,b} (День8)	День2- 168ч ^{a,b} (День9)	День14 ^b
4	2,5	4001, 4501	PD, CP	PK	PK	PK	PK	PK	PK	PK, PD.	PK	PK	PK	PK	PK	PK	PK, PD	PK, CP	PK	PK	PK, CP	PK, PD	CP

5

а: Дополнительную кровь отбирали для получения лизата цельной крови перед введением дозы в день 1, через 24 ч в день 1, через 24 ч в день 2 и в день 9.

б: Дополнительную кровь отбирали для гематологических и клинических биохимических анализов перед введением дозы в день 1, через 48 ч в день 2, в день 8 и день 14.

Измерение массы тела перед введением дозы в день 1, день 4, день 7, день 14. Проводили мониторинг клинического наблюдения за животным в течение 14 дней после введения дозы.

РК относится к образцам плазмы.

5 Процедура получения лизата цельной крови для ФД:

Отобрать достаточное количество крови для получения (2) аликвот.

Каждая аликвота составляет 200 мкл.

1) Приготовить буферный раствор BD lyse/Fix 5x

10 Из вкладыша к продукту BD “разбавить необходимое количество буферного раствора BD Phosflow™ Lyse/Fix (концентрат 5X) в соотношении 1:5 деионизированной или дистиллированной водой (комнатной температуры), а затем предварительно нагреть раствор до 37°C. Рабочий раствор 1X следует готовить для каждого эксперимента, а любой оставшийся раствор в конце эксперимента следует выбрасывать”.

15 2) Зафиксировать клетки при переносе 200 мкл крови в 1,8 мл буферного раствора BD Lyse/Fix (разведение *1:10).

3) Инкубировать в течение 10 мин при комнатной температуре.

4) Центрифугировать клетки со скоростью 1400 об/мин в течение 5 мин. Отобрать и промыть буферным раствором 10 mM PBS/0,5% BSA (добавить этот 20 буферный раствор до конечного объема 10 мл для центрифугирования)

5) Перенести клетки в центрифужные пробирки объемом 1,5 мл с 1,0 мл буферного раствора PBS/0,5% BSA, затем центрифугировать клетки при 1400 об/мин в течение 5 мин.

25 6) Отобрать и заморозить клеточный осадок (клеточный осадок без жидкости)

* Если лизис оказался неполным, можно довести до разведения 1:20 (200 мкл крови на 3,8 мл буферного раствора BD/Lyse/Fix.

Отбор крови для гематологии

30 Цельную кровь (по меньшей мере 1,0 мл) через 168 ч после введения дозы отбирали у исследуемых животных в коммерческие пробирки с калием (K2) EDTA при комнатной температуре (КТ). Образцы крови отправляли в лабораторию клинической патологии при КТ и определяли гематологические параметры.

Гематологические параметры определяли следующим образом.

Гематология	
Количество эритроцитов (RBC)	Ширина распределения эритроцитов по объему (RDW)
Гематокрит (HCT)	Количество тромбоцитов (PLT)
Гемоглобин (HGB)	Средний объем тромбоцита (MPV)
Средний объем эритроцита (MCV)	Количество лейкоцитов (WBC) и различие (абсолютное и в процентах)
Средний объем гемоглобина (MCH)	Абсолютное количество ретикулоцитов (Retic)
Среднеклеточная концентрация гемоглобина (MCHC)	

Обработка сыворотки для клинических биохимических анализов крови

- 5 Образцы цельной крови (приблизительно 1,0 мл) без антикоагулянта через 168 ч после введения дозы собирали, выдерживали при комнатной температуре в вертикальном положении в течение по меньшей мере 30 мин и отправляли в лабораторию клинической патологии для анализа.

Клинические биохимические анализы выполняли, как описано ниже.

Клинические химические анализы	
Щелочная фосфатаза (ALP)	Общий белок (TP)
Аланинаминотрансфераза (ALT)	Альбумин (ALB)
Аспартатаминотрансфераза (AST)	γ-Глутамилтрансфераза (GGT)
Общий билирубин (TBIL)	Глобулин (GLB)
Фосфор (P)	Отношение альбумин/глобулин
Креатинин (CRE)	Натрий (Na)
Глюкоза (GLU)	Хлорид (Cl)
Кальций (Ca)	Триглицериды (TG)
Общий холестерин (TCHO)	Мочевина (UREA)
Калий (K)	

- 10 Цель исследования

Целью данного исследования являлось определение фармакокинетических параметров соединения А после однократного внутривенного болюсного введения соединения А самцам и самкам яванских макаков. Исследуемое вещество измеряли в плазме в выбранные моменты времени в течение 14 дней после введения дозы.

- 15

Исследуемый продукт и информация о носителе

Исследуемое вещество

Название	Физическое состояние	Химическая формула	ММ/Общ. М (г/моль)	Чистота (%)	Станд. куб. фут
Соединение А	Порошок	C45H48F3N7O6S	871/871	98,9	1,0111

Идентификация исследуемой системы

Условия хранения	Сушить при комнатной температуре, защищать от света
Получение дозы	Получать дозы в соответствии с инструкциями. Копию инструкций, а также подробное описание хранить в протоколах исследования.
Образцы для анализа раствора дозы	После получения каждой дозы отбирать по меньшей мере 20 мкл состава, переносить аликвоты в полипропиленовые пробирки для микроцентрифуги и хранить при температуре -60 °C или ниже до повторного анализа для подтверждения дозы.
Размещение оставшихся составов исследуемого соединения	Оставшиеся составы хранить при комнатной температуре.

Характеристики животных

Виды животных	Яванские макаки
Обоснование выбора видов	Этот вид является приемлемым для проведения фармакокинетических исследований соединений, предназначенных для использования у людей.
История доз	Не наивные животные
Интервал массы тела	$\geq 2,5$ кг
Возраст	≥ 2 года
Пол	Самки и самцы
Количество животных для акклиматизации	8 самцов и 8 самок
Количество животных для дозировки	6 самцов и 6 самок
Обоснование числа животных	Количество животных в каждой группе представляет собой минимальное количество животных, необходимое для оценки внутривидовой изменчивости.
Выбор животных	Отбирали 8 самцов и 8 самок, которые проходили осмотр на предмет общего состояния физического здоровья. 6 самцов и 6 самок, которые были признаны здоровыми, направляли на исследование.

Период акклиматизации	Отобранных животных выдерживали для акклиматизации перед исследованием.
-----------------------	---

Уход за животными

Условия окружающей среды

Помещение(я) контролировали и определяли относительную влажность (требуемый средний диапазон от 40% до 70%, и любое отклонение от этого диапазона в течение более чем 3 ч регистрировали в качестве отклонения) и температура (требуемый средний диапазон от 18° до 26°C, и любое отклонение от этого диапазона регистрировали в качестве отклонения) при 10-20 сменах воздуха в час. В комнате поддерживали 12-часовой цикл свет/темнота, за исключением случаев, когда перерывы были необходимы для исследования.

Содержание животных

Животных по отдельности содержали в сетчатых клетках из нержавеющей стали в течение жизни.

Кормление и питание

Животных кормили два раза в день. Обезьянам ежедневно давали около 120 г сертифицированного корма для обезьян. Эти количества корректировали при необходимости на основании потребления пищи группой или индивидуальных изменений массы тела животного в группе или отдельного животного и/или изменений сертифицированного рациона. Кроме того, животные ежедневно получали фрукты в качестве питательной добавки.

Схема кормления описана в Таблице 7-1-1.

Питьевая вода

RO (обратноосмотическая) вода была доступна для всех животным без ограничений.

Анализы корма и воды

Воду RO анализировали каждые три месяца, и каждую партию корма анализировали перед использованием. Анализы корма и воды были сохранены в учетных записях предприятия.

Окружающая среда

Были предоставлены развивающие игрушки. Свежие фрукты, полученные у поставщиков продуктов питания для людей, доставляли ежедневно, за исключением периодов голодания.

Характеристики животных

Виды животных	Яванские макаки
Обоснование выбора видов	Этот вид является приемлемым для проведения фармакокинетических исследований соединений, предназначенных для использования у людей.
История доз	Не наивные животные
Интервал массы тела	$\geq 2,5$ кг
Возраст	≥ 2 года
Пол	Самки и самцы
Количество животных для акклиматизации	8 самцов и 8 самок
Количество животных для дозирования	6 самцов и 6 самок
Обоснование числа животных	Количество животных в каждой группе представляет собой минимальное количество животных, необходимое для оценки внутривидовой изменчивости.
Выбор животных	Отбирали 8 самцов и 8 самок, которые проходили осмотр на предмет общего состояния физического здоровья. 6 самцов и 6 самок, которые были признаны здоровыми, направляли на исследование.
Период акклиматизации	Отобранных животных выдерживали для акклиматизации перед исследованием.

Наблюдения и исследования

Клинические наблюдения

- 5 Дважды в день (приблизительно в 9:30 и 16:00) со стороны клетки оценивали общее состояние здоровья и внешний вид животных. Перед первоначальным исследованием животных оценивали физическое состояние животных, чтобы подтвердить здоровье животных. День дозирования: до и после дозирования, а также до и после каждого момента времени отбора образца для
- 10 **ФК** анализа в течение 24 ч. После этого два раза в день. Общее состояние, поведение, активность, экскрецию, дыхание или другие необычные наблюдения, отмеченные на протяжении всего исследования, регистрировали в виде первичных данных. При необходимости проводили и регистрировали дополнительные клинические наблюдения.

- 15 Масса тела

Всех животных взвешивали в день введения дозы перед введением дозы для определения объема дозы, подлежащей введению, а затем снова еженедельно.

Отбор образцов крови и мочи

5 Кровь: все образцы крови отбирали из периферического сосуда у животных с фиксированным телом.

Животные: все доступны, все группы

10 Чистая плазма: Цельную кровь отбирали у доступного животного в коммерческие пробирки, содержащие калий (K2) ЭДТА при охлаждении во влажном льду, и обрабатывали для получения плазмы. Плазму объединяли, при этом получали чистую плазму.

Предварительная доза и доза после введения

Объем крови: примерно 0,5 мл в каждый момент времени

Антикоагулянт: калий (K2) ЭДТА

15 Частота: См. табл. 7-1-2. Фактическое время отбора образцов регистрировали в протоколах исследования. Для образцов, отобранных в течение первого часа после дозировки, допускалось отклонение ± 1 мин. В остальные моменты времени образцы, отобранные в пределах 5% запланированного времени, являлись пригодными и не рассматривались в качестве отклонения от
20 протокола.

Обработка образца

Для плазмы: 12,5 мкл 20% Tween 20 добавляли в коммерческие пробирки, содержащие калий (K2) ЭДТА (0,85–1,15 мг) при охлаждении во влажном льду, 0,4–0,5 мл крови отбирали в эти пробирки и обрабатывали для получения
25 плазмы. Образцы центрифугировали (3000 g в течение 10 мин при температуре от 2 до 8°C) в течение одного ч после отбора. Образцы плазмы (0,2 мл/образец) переносили в маркированные полипропиленовые пробирки для микроцентрифуги, соответственно, и хранили в замороженном виде в морозильной камере, пригодной для поддержания температуры -60°C или ниже.

30 Анализ образцов и хранение

Проверка концентрации в лекарственной форме

• Разрабатывали метод ЖХ/УФ или ЖХ/МС/МС с использованием калибровочной кривой, состоящей из 6 калибровочных стандартов.

- Концентрации исследуемого соединения в образцах лекарственной формы определяли методом ЖХ/УФ или ЖХ/МС/МС.

Критерии приемлемости для аналитического цикла: не менее 5 из 6 калибровочных стандартов должны находиться в пределах 20% от номинальных значений при использовании метода ЖХ/УФ и 30% от номинальных значений при использовании метода ЖХ/МС/МС.

Разработка биоаналитического метода и анализ образцов

Разработка метода ЖХ-МС/МС

1. Метод ЖХ-МС/МС для количественного определения исследуемого соединения в биологической матрице разработан в соответствии с требованиями, отличными от правил надлежащей лабораторной практики (GLP).

2. Для метода, включая LLOQ, использовали калибровочную кривую (QC), содержащую по меньшей мере 7 ненулевых калибровочных стандартов.

3. Для метода применяли набор образцов QC, включающей низкую, среднюю и высокую концентрацию.

4. Метод N в 1 кассете ЖХ-МС/МС разработан для образцов, полученных в ходе разных исследований, при условии, что эти исследования относятся к одному спонсору, а интерференцию между всеми аналитами в кассете оценивали в ходе разработки метода.

5. Анализ с введением кассет проводили при превышении различия масс (ΔMass) в различных аналитах на величину 4 Да. В этом случае оценка не являлась необходимой.

При ΔMass среди различных аналитов менее 4 Да существовал потенциальный риск возникновения помех во время анализа ЖХ-МС/МС.

При необходимости проведения такого вида кассетного анализа по запросу спонсора исследования интерференцию между аналитами не оценивали, но предпринимали попытку ЖХ-разделения этих аналитов с использованием общего метода. При невозможности разделения таких аналитов клиенту направляли уведомление и требовалась документация по протоколу эксперимента.

6. Биологический образец в матрице, отличной от плазмы, сначала разбавляли плазмой, а затем проводили количественный анализ по калибровочной кривой плазмы. Соответствующие QC разбавления для

обеспечения точности разбавления и различия матриц включали в аналитический цикл.

Анализ образцов

- 5 1. Если количество образцов в партии ≤ 12 , по меньшей мере один набор стандартных кривых, разделенных на две части в начале и в конце последовательности, включали в цикл, и калибровочная кривая (QC) не требовалась. Рекомендуемый порядок инъекций: C8, C6, C4, C2, исследуемые образцы, C7, C5, C3, C1.
- 10 2. Если количество образцов в партии >12 , для биоанализа применяли одну стандартную кривую и два набора образцов для QC с низкой, средней и высокой концентрацией, при этом количество образцов для QC составляло более 5% от количества исследуемых образцов.
- 15 3. Образцы, поступившие от одного клиента с одним и тем же типом матрицы, но полученные в ходе различных исследований, количественно определяли в одном цикле анализа с использованием разработанного метода N в 1 кассете ЖХ-МС/МС.
- 20 4. Биологические образцы в матрице, отличной от плазмы, рекомендуется разбавлять плазмой, а затем количественно определять по калибровочной кривой плазмы. Соответствующие разбавления QC для обеспечения точности разбавления и различия матриц включали в аналитический цикл. По специальному запросу спонсора биологические образцы количественно оценивали по калибровочным кривым в их собственных соответствующих матрицах.

Критерии приемлемости

- 25 1. Линейность: $\geq 75\%$ стандартных доз (STD) рассчитывали по результатам полученных данных с точностью до $\pm 20\%$ от их номинальных значений в биожидкости и в пределах 25% от их номинальных значений в образцах тканей и фекалий.
- 30 2. Точность: $\geq 67\%$ всех образцов QC рассчитывали по результатам полученных данных с точностью до $\pm 20\%$ от их номинальных значений для биожидкости и в пределах 25% от их номинальных значений для образцов тканей и фекалий.

3. Специфичность: средняя рассчитанная концентрация в одной пустой матрице составляла $\leq 50\%$ LLOQ.

4. Чувствительность:

4.1 Если биологические образцы в матрице, отличающейся от плазмы, разбавляли плазмой и количественно определяли по калибровочной кривой плазмы, величина LLOQ калибровочной кривой плазмы могла достигать требуемой величины ≤ 2 нг/мл, что эквивалентно $LLOQ \leq 4$ нг/мл в биологической матрице, отличающейся от плазмы (при использовании 2-кратного разведения).

4.2 Если биологические образцы количественно оценивались по калибровочным кривым, полученным с использованием соответствующей матрицы, LLOQ могла достигать требуемого уровня ≤ 3 нг/мл.

О любых корректировках LLOQ спонсору сообщали заранее.

5. Эффект “следового переноса”: Средняя расчетная площадь переноса в пустой матрице сразу после введения стандарта с самой высокой концентрацией должна быть меньше, чем величина LLOQ. Если перенос не соответствует критериям, его влияние на неизвестные образцы оценивали в соответствии со следующей процедурой.

Оценку переноса проводили в соответствии с абсолютным переносом.

Вклад переноса рассчитывали как отношение площади контроля с наибольшим переносом (максимальная площадь контроля переноса) к величине ULOQ с минимальным расчетным значением (площадь min ULOQ).

Влияние переноса рассчитывали как отношение площади одной инъекции (площадь одной инъекции) к площади следующей инъекции (площадь следующей инъекции). Абсолютный перенос рассчитывали при умножении вклада переноса на эффект переноса, значение абсолютного переноса составляло менее 20%.

Вклад переноса = максимальная площадь контроля переноса / минимальная площадь ULOQ

Влияние переноса = площадь одной инъекции / площадь следующей инъекции

Абсолютный перенос = вклад переноса * влияние переноса

7.2 Фармакокинетические параметры и характеристика переносимости
после внутривенного болюсного введения самцам и самкам яванских обезьян

Таблица 7-2-1. Дизайн исследования

№ группы	Число животных	Лечение						
		Исследуемое соединение	Доза	Объем дозы	Требуемая концентрация дозы (мг/мл)	Носитель	Способ введения	Примечания
			(мг/кг)	(мл/кг)				
1	1 самец + 1 самка	Соединение А	0	1	0	5 мас.% TPGS в 0,1 М ацетате	Внутривенный болюсный	Контрольная группа, одна доза в день 1 и день 2
2	1 самец + 1 самка	Соединение А	10	1	10	5 мас.% TPGS в 0,1 М ацетате	Внутривенный болюсный	Одна доза в день 1
3	1 самец + 1 самка	Соединение А	20	1	20	5 мас.% TPGS в 0,1 М ацетате	Внутривенный болюсный	Одна доза в день 1
4	1 самец + 1 самка	Соединение А	5	1	5	5 мас.% TPGS в 0,1 М ацетате	Внутривенный болюсный	Одна доза в день 1 и день 2
5	1 самец + 1 самка	Соединение А	10	1	10	5 мас.% TPGS в 0,1 М ацетате	Внутривенный болюсный	Одна доза в день 1 и день 2
Примечание: 10% HP- β -CD означает 10% гидроксипропил- β -циклодекстрин								

Таблица 7-2-2

Отбор образцов

Группа	Доза	№ животного	Время отбора образцов (ч)														
	(мг/кг)		Предв. доза ^{a, b}	0,5	1	2	4	8	12	24 ^a (День2)	48 (День3)	72 (День4)	96 (День5)	120 (День6)	168 ^{a, b} (День8)	День11 ^b	День 14 ^b
1	0	1001, 1501	PD, CP	--	--	--	--	--	--	PD	CP	--	PD	--	PD, CP	CP	CP

а: Дополнительную кровь отбирали перед введением дозы, через 24 ч, через 96 ч, день 8, для получения лизата цельной крови.

б: Дополнительную кровь отбирали перед введением дозы, через 48 ч, в день 8, день 11 и день 14, для гематологических, клинических и биохимических анализов.

Группа	Доза	№ животного	Время сбора образцов (ч)														
	(мг/кг)		Предв. доза ^{a, b}	0,5	1	2	4	8	12	24 ^a (День2)	48 (День3)	72 (День4)	96 (День5)	120 (День6)	168 ^{a, b} (День8)	День11 ^b	День 14 ^b
2	10	2001, 2501	PD, CP	--	--	--	--	--	--	PD	CP	--	--	--	PD, CP	CP	CP
3	20	3001, 3501	PD, CP	--	--	--	--	--	--	PD	CP	--	--	--	PD, CP	CP	CP

а: Дополнительную кровь отбирали перед введением дозы, через 24 ч, через 72 ч, день 8, для получения лизата цельной крови.

5 б: Дополнительную кровь собирали перед введением дозы, через 48 ч, в день 8, день 11 и день 14, для гематологических, клинических и биохимических анализов.

Группа	Доза	№ животного	Время сбора образцов (ч)																					
	(мг/кг)		День 1 - предв. доза ^{a,b}	День 1 – 0,5 ч	День 1 – 1 ч	День 1 – 2 ч	День 1 – 4 ч	День 1 – 8 ч	День 1 – 12 ч	День 1 – 24 ч ^{a,b} (День)	День 2 – 0,5 ч	День 2 – 1 ч	День 2 – 2 ч	День 2 – 4 ч	День 2 – 8 ч	День 2 – 12 ч	День 2-24 ч ^a (день 3)	День 2-48 ч ^b (День 4)	День 2-96 ч (День 6)	День 2-120 ч (День 7)	День 2-144 ч ^{a,b} (День 8)	День 2-168 ч ^{a,b} (День 9)	День 11 ^b	День 14 ^b
4	2,5	4001, 4501	PD, CP	PK	PK	P K	P K	P K	P K	PK, PD,	PK	PK	P K	P K	PK	P K	PK, PD	PK, CP	PK	PK	PK, CP	PK, PD	C P	CP
4	2,5	4001, 4501	PD, CP	PK	PK	P K	P K	P K	P K	PK, PD,	PK	PK	P K	P K	PK	P K	PK, PD	PK, CP	PK	PK	PK, CP	PK, PD	C P	CP

а: Дополнительную кровь собирали для получения лизата цельной крови перед введением дозы, через 24 ч в день 1, через 24 ч в день 2, через 72 ч в день 2 и в день 9.

10 б: Дополнительную кровь собирали для гематологических, клинических и биохимических анализов перед введением дозы, через 48 ч в день 2, в день 8, день 11 и день 14.

Измерение массы тела перед введением дозы в день 1, день 4, день 7, день 14. Мониторинг клинического наблюдения за животным в течение 14 дней после введения дозы.

ФК относится к образцам плазмы.

5 Процедура получения лизата цельной крови для ФК:

Отбирали достаточное количество крови для получения (2) аликвот.

Каждая аликвота составляет 200 мкл.

1) Готовили буферный раствор BD lyse/Fix 5x

10 Из вкладыша к продукту BD “разбавить необходимое количество буферного раствора BD Phosflow™ Lyse/Fix (концентрат 5X) в соотношении 1:5 деионизированной или дистиллированной водой (комнатной температуры), а затем предварительно нагреть раствор до 37°C. Рабочий раствор 1X следует готовить для каждого эксперимента, а любой оставшийся раствор в конце эксперимента следует выбрасывать”.

15 2) Зафиксировать клетки при переносе 200 мкл крови в 1,8 мл буферного раствора BD Lyse/Fix (разведение *1:10).

3) Инкубировать в течение 10 мин при комнатной температуре.

20 4) Центрифугировать клетки со скоростью 1400 об/мин в течение 5 мин. Отобрать и промыть раствором 10 mM PBS/0,5% BSA (добавить этот буферный раствор до конечного объема 10 мл для центрифугирования)

5) Перенести клетки в центрифужные пробирки объемом 1,5 мл с 1,0 мл буферного раствора PBS/0,5% BSA, затем центрифугировать клетки при 1400 об/мин в течение 5 мин.

25 6) Отобрать и заморозить клеточный осадок (клеточный осадок без жидкости)

* Если лизис оказался неполным, можно довести до разведения 1:20 (200 мкл крови на 3,8 мл буферного раствора BD/Lyse/Fix.

Отбор крови для гематологического анализа

30 Цельную кровь (по меньшей мере 1,0 мл) через 168 ч после введения дозы отбирали у исследуемых животных в коммерческие пробирки с калием (K2) EDTA при комнатной температуре (КТ). Образцы крови отправляли в лабораторию клинической патологии при КТ и определяли гематологические параметры.

Гематологические параметры определяли следующим образом.

Гематология	
Количество эритроцитов (RBC)	Ширина распределения эритроцитов по объему (RDW)
Гематокрит (HCT)	Количество тромбоцитов (PLT)
Гемоглобин (HGB)	Средний объем тромбоцита (MPV)
Средний объем эритроцита (MCV)	Количество лейкоцитов (WBC) и различие (абсолютное и в процентах)
Средний объем гемоглобина (MCH)	Абсолютное количество ретикулоцитов (Retic)
Среднеклеточная концентрация гемоглобина (MCHC)	

Обработка сыворотки для клинических биохимических анализов

- 5 Образцы цельной крови (приблизительно 1,0 мл) без антикоагулянта через 168 ч после введения дозы отбирали, выдерживали при комнатной температуре в вертикальном положении в течение по меньшей мере 30 мин и отправляли в лабораторию клинической патологии для анализа.

Клинические биохимические анализы выполняли, как описано ниже.

Клинические биохимические анализы	
Алкалинфосфатаза (ALP)	Общий белок (TP)
Аланинаминотрансфераза (ALT)	Альбумин (ALB)
Аспартатаминотрансфераза (AST)	γ-Глутамилтрансфераза (GGT)
Общий билирубин (TBIL)	Глобулин (GLB)
Фосфор (P)	Отношение альбумин/глобулин
Креатинин (CRE)	Натрий (Na)
Глюкоза (GLU)	Хлорид (Cl)
Кальций (Ca)	Триглицериды (TG)
Общий холестерин (TCHO)	Мочевина (UREA)
Калий (K)	

- 10 Цель исследования

- 15 Целью данного исследования являлось определение фармакокинетических параметров и переносимости соединения А после внутривенного болюсного введения соединения А в один день или в два последующих дня самцам и самкам яванских макаков. Исследуемое вещество измеряли в плазме в выбранные моменты времени в течение 14 дней после введения дозы.

Исследуемое вещество и информация о носителе

Исследуемое вещество

Название	Физическое состояние	Химическая формула	ММ/общ М (г/моль)	Теоретическая активность* (%)	Станд. куб. фут
Соединение А	Порошок	C45H48F3N7O6S	871/871	20%	5

*Исследуемое соединение состоит из 20% активного соединения (соединение А) и 80% эксципиента (HPBCD)

Условия хранения	Сушить при комнатной температуре, защищать от света
Инструкции по обращению с веществом	Стандартные меры предосторожности по безопасному обращению
Получение дозы	Получать дозы следует в соответствии с инструкциями спонсора. Копию инструкций, а также подробности получения хранить в протоколах исследования.
Образцы для анализа дозы в растворе	После получения каждой дозы отобрать по меньшей мере 20 мкл состава, переносить аликвоты в полипропиленовые пробирки для микроцентрифуги и хранить при температуре -60 °C или ниже до повторного анализа для подтверждения дозы.
Хранение оставшихся составов исследуемого соединения	Оставшиеся составы хранить при комнатной температуре.
Хранение оставшихся составов исследуемого соединения (сухого порошка или твердого вещества)	Оставшийся образец для испытаний хранить в сухом и защищенном от света месте при комнатной температуре и отправить обратно спонсору или утилизировать через 6 месяцев после подписания окончательного отчета или после утверждения спонсором.

5 Носитель и получение состава

Протокол приготовления раствора 20%:80% соединение А:HPBCD SDD:

Цель: Получение раствора 20 мгА/мл 20%:80% Соединение А:HPBCD SDD в водном носителе, содержащем 5 мас.% TPGS в 0,1 М ацетате, пригодном для внутривенного введения нечеловекообразным приматам.

Исследуемое соединение: 20%:80% соединение А:HPBCD SDD					
Название	Физическое состояние	Химическая формула	ММ/ОбщМ (г/моль)	Теоретическая активность* (%)	Станд. куб фут
Соединение А	Порошок	C45H48F3N7O6S	871/871	20%	5

10 *Исследуемое соединение состоит из 20% активного соединения (соединение А) и 80% эксципиента (HPBCD)

Материалы:

- Очищенная вода, тип II или класс для ВЭЖХ
- Ледяная уксусная кислота
- TPGS
- Исследуемый продукт: 20%:80% Соединение А: HP- β -CD SDD (DBR-KY1-004-A)

Получение носителя

5 мас.% TPGS, 0,1 М ацетат, pH 3,5

10 а. Добавить 0,572 мл ледяной уксусной кислоты в 85 мл очищенной воды, перемешать до полного растворения.

б. pH довести до 3,5 с использованием NaOH

в. Смешать с водой и довести объем до 100 мл

д. Добавить 5,26 г TPGS и перемешать до полного растворения.

15 Получение раствора для введения внутривенным способом

а. Взвесить испытуемый образец, как указано в таблице составов, в сосуд соответствующего размера.

б. Добавить носитель и немедленно тщательно перемешать до полного растворения исследуемого соединения.

20 а. Раствор должен окраситься в ярко-желтый цвет и быть прозрачным без видимых частиц.

б. Исключить избыточное встряхивание для предотвращения образования пузырьков.

25 в. Медленно довести pH раствора при постоянном интенсивном перемешивании до 6,0 с использованием 5 н. NaOH.

Идентификация исследуемой системы

Характеристики животных

Виды	Яванские макаки
Обоснование выбора видов	Этот вид является приемлемым для проведения фармакокинетических исследований соединений, предназначенных для использования у людей.
История доз	Не наивные животные
Интервал массы тела	$\geq 2,5$ кг
Возраст	≥ 2 года

Пол	Самки и самцы
Количество животных для акклиматизации	7 самцов и 7 самок
Количество животных для дозирования	5 самцов и 5 самок
Обоснование числа животных	Количество животных в каждой группе представляет собой минимальное количество животных, необходимое для оценки внутривидовой изменчивости.
Выбор животных	Отбирали 7 самцов и 7 самок из доступного количества животных. Животные осматривали для оценки общего состояния здоровья. 5 самцов и 5 самок, которые были признаны здоровыми, направляли на исследование.
Период акклиматизации	Отобранных животных выдерживали для акклиматизации перед исследованием.

Уход за животными

Условия окружающей среды

Помещение(я) контролировали и определяли относительную влажность (требуемый средний диапазон от 40% до 70%, и любое отклонение от этого диапазона более чем на 3 ч регистрировали в качестве отклонения), и температуру (требуемый средний диапазон от 18° до 26°С, и любое отклонение от этого диапазона регистрировали в качестве отклонения) при 10-20 сменах воздуха в час. В комнате поддерживали 12-часовой цикл свет/темнота, за исключением случаев, когда перерывы были необходимы для исследования.

Содержание животных

Животных по отдельности содержали в сетчатых клетках из нержавеющей стали в течение жизни.

Кормление и питание

Животных кормили два раза в день. Стандартным обезьянам ежедневно давали около 120 г сертифицированного корма для обезьян. Эти количества корректировали при необходимости на основании потребления пищи группой или индивидуальных изменений массы тела животного в группе или отдельного животного и/или изменений сертифицированного рациона. Кроме того, животные ежедневно получали фрукты в качестве питательной добавки.

Схема кормления описана в Таблице 7-2-1.

Питьевая вода

RO (обратноосмотическая) вода была доступна для всех животным без ограничений.

Анализы корма и воды

5 Воду RO анализировали каждые три месяца, и каждую партию корма перед использованием анализировали. Анализы корма и воды хранили в учетных записях предприятия.

Окружающая среда

10 Были предоставлены развивающие игрушки. Свежие фрукты, полученные у поставщиков продуктов питания для людей, доставляли ежедневно, за исключением периодов голодания.

Введение лекарственного состава

Способ введения	Внутривенно в виде болюсной инъекции в головную или подкожную вену.
Обоснование уровня дозы	Уровни доз, выбранные для фармакокинетических характеристик исследуемого соединения у обезьян в диапазоне доз и концентраций в плазме, которые приблизительно соответствуют ожидаемому эффективному воздействию с учетом умеренных многократных воздействий при увеличении воздействия с увеличением дозы. Ожидается, что эти дозы и полученные воздействия не вызовут каких-либо заболеваний или токсичности у нечеловекообразных приматов, на основании ответной реакции грызунов на аналогичные диапазоны доз.
Обоснование способа введения	Данный способ введения находится в соответствии с предложенным первоначальным способом введения человеку или является необходимым для достижения цели исследования.
Введение дозы	Лекарственную форму состава вводили в соответствии со стандартной операционной процедурой (SOP) учреждения. Внутривенно (IV): дозы IV вводили при медленной инъекции через головную или подкожную вену. Вену, используемую для введения дозы, не использовали для забора образца крови в течение первых 4 ч после введения дозы.

Наблюдения и исследования

Клинические наблюдения

15 Дважды в день (приблизительно в 9:30 и 16:00) проводили наблюдения со стороны клетки на предмет общего состояния здоровья и внешнего вида. Перед первоначальным исследованием оценивали физическое состояние животных,

чтобы подтвердить здоровье животных. День дозировки: до и после дозировки, а также до и после каждого момента времени отбора образца для ФК через 24 ч.

После этого два раза в день. Общее состояние, поведение, активность, экскрецию, дыхание или другие необычные наблюдения, отмеченные на

5 протяжении всего исследования, регистрировали в виде первичных данных. При необходимости проводили и регистрировали дополнительные клинические наблюдения.

Масса тела

10 Всех животных взвешивали в день введения дозы перед введением дозы для определения объема дозы, подлежащей введению, а затем снова еженедельно.

Отбор образцов крови и мочи

Кровь: все образцы крови отбирали из периферического сосуда у животных с фиксированным телом.

15 Животные: все доступны, все группы

Чистая плазма: Цельную кровь отбирали у доступного животного в коммерческие пробирки, содержащие калий (K2) ЭДТА при охлаждении во влажном льду, и обрабатывали для получения плазмы. Плазму объединяли, при этом получали чистую плазму.

20 Предварительная доза и доза после введения

Объем крови: примерно 0,5 мл в каждый момент времени

Антикоагулянт: калий (K2) ЭДТА

25 Частота: См. табл. 7-2-2. Фактическое время отбора образцов регистрировали в протоколах исследования. Для образцов, отобранных в течение первого часа после дозировки, допускалось отклонение ± 1 мин. В остальные моменты времени образцы, отобранные в пределах 5% запланированного времени, являлись пригодными и не рассматривались в качестве отклонения от протокола.

Обработка образца

30 Для плазмы: 12,5 мкл 20% Tween 20 добавляли в коммерческие пробирки, содержащие калий (K2) ЭДТА (0,85–1,15 мг) при охлаждении во влажном льду, 0,4–0,5 мл крови отбирали в эти пробирки и обрабатывали для получения плазмы. Образцы центрифугировали (3000 g в течение 10 мин при температуре

от 2 до 8°C) в течение одного ч после отбора. Образцы плазмы (0,2 мл/образец) переносили в маркированные полипропиленовые пробирки для микроцентрифуги, соответственно, и хранили в замороженном виде в морозильной камере, пригодной для поддержания температуры -60°C или менее.

5 Анализ образцов и хранение

Проверка концентрации в лекарственной форме

Разрабатывали метод ЖХ/УФ или ЖХ/МС/МС с использованием калибровочной кривой, состоящей из 6 калибровочных стандартов.

10 Концентрации исследуемого соединения в образцах лекарственной формы определяли методом ЖХ/УФ или ЖХ/МС/МС.

Критерии приемлемости для аналитического цикла: не менее 5 из 6 калибровочных стандартов должны находиться в пределах 20% от номинальных значений при использовании метода ЖХ/УФ и 30% от номинальных значений при использовании метода ЖХ/МС/МС.

15 Разработка биоаналитического метода и анализ образцов

Разработка метода ЖХ-МС/МС

1. Метод ЖХ-МС/МС для количественного определения исследуемого соединения в биологической матрице разработан в соответствии с требованиями, отличными от правил GLP.

20 2. Для метода, включая LLOQ, использовали калибровочную кривую QC, содержащую по меньшей мере 7 ненулевых калибровочных стандартов.

3. Для метода применяли набор образцов QC, включающий низкую, среднюю и высокую концентрации.

25 4. Метод N в 1 кассете ЖХ-МС/МС разработан для образцов, полученных в ходе разных исследований, при условии, что эти исследования относятся к одному спонсору, а интерференцию между всеми аналитами в кассете оценивали в ходе разработки метода.

30 5. Анализ с введением кассет проводили при превышении различия масс (ΔMass) в различных аналитах на величину 4 Да. В этом случае оценка не являлась необходимой.

При ΔMass среди различных аналитов менее 4 Да существовал потенциальный риск возникновения помех во время анализа ЖХ-МС/МС. При необходимости проведения такого вида кассетного анализа по запросу спонсора

исследования, интерференцию между аналитами не оценивали, но предпринимали попытку ЖХ-разделения этих аналитов с использованием общего метода. При невозможности разделения таких аналитов клиенту направляли уведомление и требовалась документация по протоколу

5 эксперимента.

6. Биологический образец в матрице, отличной от плазмы, сначала разбавляли плазмой, а затем проводили количественный анализ по калибровочной кривой плазмы. Соответствующие QC разбавления для обеспечения точности разбавления и различия матриц включали в
10 аналитический цикл.

Анализ образцов

1. Если количество образцов в партии ≤ 12 , по меньшей мере один набор стандартных кривых, разделенных на две части в начале и в конце последовательности, включали в цикл, и калибровочная кривая (QC) не
15 требовалась. Рекомендуемый порядок инъекций: C8, C6, C4, C2, исследуемые образцы для исследования, C7, C5, C3, C1.

2. Если количество образцов в партии >12 , для биоанализа применяли одну стандартную кривую и два набора образцов для QC с низкой, средней и высокой концентрацией, при этом количество образцов для QC составляло более
20 5% от количества исследуемых образцов.

3. Образцы, поступившие от одного клиента с одним и тем же типом матрицы, но в ходе различных исследований, количественно определяли в одном цикле анализа с использованием разработанного метода N в 1 кассете ЖХ-МС/МС.

25 4. Биологические образцы в матрице, отличной от плазмы, рекомендуется разбавлять плазмой, а затем количественно определять по калибровочной кривой плазмы. Соответствующие разбавления QC для обеспечения точности разбавления и различия матриц включали в аналитический цикл. По специальному запросу спонсора биологические образцы количественно
30 оценивали по калибровочным кривым в их собственных соответствующих матрицах.

Критерии приемлемости

1. Линейность: $\geq 75\%$ стандартную дозу (STD) рассчитывали по результатам полученных данных с точностью до $\pm 20\%$ от их номинальных значений в биожидкости и в пределах 25% от их номинальных значений в образцах тканей и фекалий.

5 2. Точность: $\geq 67\%$ всех образцов QC рассчитывали по результатам полученных данных с точностью до $\pm 20\%$ от их номинальных значений для биожидкости и в пределах 25% от их номинальных значений для образцов тканей и фекалий.

10 3. Специфичность: средняя рассчитанная концентрация в одной пустой матрице составляла $\leq 50\%$ LLOQ.

4. Чувствительность:

15 4.1 Если биологические образцы в матрице, отличающейся от плазмы, разбавляли плазмой и количественно определяли по калибровочной кривой плазмы, величина LLOQ калибровочной кривой плазмы могла достигать требуемой величины ≤ 2 нг/мл, что эквивалентно $LLOQ \leq 4$ нг/мл в биологической матрице, отличающейся от плазмы (при использовании 2-кратного разведения).

20 4.2 Если биологические образцы количественно оценивали по калибровочным кривым, полученным с использованием соответствующей матрицы, LLOQ могла достигать требуемого уровня ≤ 3 нг/мл.

О любых корректировках LLOQ спонсору сообщали заранее.

25 5. Эффект “следового переноса”: Средняя расчетная площадь переноса в пустой матрице сразу после введения стандарта с самой высокой концентрацией должна быть меньше, чем величина LLOQ. Если перенос не соответствует критериям, его влияние на неизвестные образцы оценивали в соответствии со следующей процедурой.

30 Оценку переноса проводили в соответствии с абсолютным переносом. Вклад переноса рассчитывали как отношение площади контроля с наибольшим переносом (максимальная площадь контроля переноса) величины ULOQ с минимальным расчетным значением (площадь $\min$ ULOQ).

Влияние переноса рассчитывали как отношение площади одной инъекции (площадь одной инъекции) к площади следующей инъекции (площадь следующей инъекции). Абсолютный перенос рассчитывали при умножении

вклада переноса на эффект переноса, значение абсолютного переноса составляло менее 20%.

Вклад переноса = максимальная площадь контроля переноса /
минимальная площадь ULOQ

5 Влияние переноса = площадь одной инъекции / площадь следующей
инъекции

Абсолютный перенос = вклад переноса * влияние переноса

7.3 Фармакокинетические характеристики соединения А после
внутривенного однократного или повторного введения пероральным способом
10 самцам и самкам яванских обезьян

Таблица 7-3-1. Дизайн исследования

№ группы	Число животных	Лечение						
		Исследуемое соединение	Доза	Объем дозы	Требуемая концентрация дозы (мг/мл)	Носитель	Способ введения	Примечания
			(мг/кг)	(мл/кг)				
1	1 самец + 1 самка	Соединение А	50	5	10	10%HP-b-CD	Пероральный	Одна доза в день 1
2	1 самец + 1 самка	Соединение А	100	5	20	10%HP-b-CD	Пероральный	Одна доза в день 1
3	1 самец + 1 самка	Соединение А	10	5	2	10%HP-b-CD	Пероральный	Одна доза в день 1 и в день 4
4	1 самец + 1 самка	Соединение А	25	5	5	10%HP-b-CD	Пероральный	Одна доза в день 1 и день 4
5	1 самец + 1 самка	Соединение А	50	5	10	10%HP-b-CD	Пероральный	Одна доза в день 1 и день 4
6	1 самец + 1 самка	Соединение А	25	5	5	10%HP-b-CD	Пероральный	Одна доза в день 1 и день 2
7	1 самец + 1 самка	--	0	5	0	10%HP-b-CD	Пероральный	Контрольная группа QD X 7 дней
8	1 самец + 1 самка	Соединение А	3	5	0,6	10%HP-b-CD	Пероральный	QD X 7 дней

Примечание:
 10% HP-b-CD означает 10% гидроксипропил-β-циклодекстрин
 QD X 7 дней: 7 последующих дней.
 3. Группы 1, 2: животные не голодали в течение ночи перед первым днем дозирования в день 1. Группы 3, 4, 5: животных не кормили в течение ночи перед первым днем введения дозы в день 1 и перед последним введением дозы в день 4, корм возвращали через 4 часа после введения дозы. Группы 6: животных не кормили в течение ночи перед первым днем введения дозы в день 1 и перед последним введением дозы в день 2, корм возвращали через 4 часа после введения дозы. Следует убедиться, что у животных есть 4 часа, чтобы получить пищу между 1 и 2 днем. Группа 7 и 8: животных не кормили в течение ночи перед первым днем введения дозы в день 1 и перед последним введением дозы в день 7, корм возвращали через 4 часа после введения дозы.

Таблица 7-3-2

Сбор образцов

Группа	Доза	№ животного	Время сбора образцов (ч)											День 14 ^b
	(мг/кг)		Предв. доза ^{a, b}	2	4	8	12	24 ^a (День 2)	48 (День 3)	72 (День 4)	96 (День 5)	120 (День 6)	168 ^{a, b} (День 8)	
1	50	1001, 1501	PD, CP	PK	PK	PK	PK	PK, PD	PK CP	PK	PK	PK	PK, PD, CP	CP
2	100	2001, 2501	PD, CP	PK	PK	PK	PK	PK, PD	PK CP	PK	PK	PK	PK, PD, CP	CP

а: Дополнительную кровь отбирали перед введением дозы, через 24 ч, день 8, для получения лизата цельной крови.

5 б: Дополнительную кровь отбирали перед введением дозы, через 48 ч, в день 8 и день 14, для гематологических, клинических и биохимических анализов.

Группа	Доза	№ животного	Время сбора образцов (ч)															
	(мг/кг)		День 1 - предв. доза ^{a,b}	День 1 -2ч	День 1 -4ч	День 1 -8ч	День 1 -12ч	День 1-48ч ^{a,b}	День 4 - предв. доза ^{a,b}	День 4 -2ч	День 4 -4ч	День 4 -8ч	День 4 -12 ч	День 4 -24 ч ^{a,b} (день 5)	День 4 –48 ч (День 6)	День 4 –96 ч (День 8)	День 4 -120 ч ^{a,b} (День 9)	День 4 -168 ч (День 11)

3	10	3001, 3501	PD, CP	PK	PK	PK	PK	PK, PD	CP, PK	PK, PD	PK	PK	PK	PK, PD	PK, CP	PK, PD, CP	PK	PK	CP
4	25	4001, 4501	PD, CP	PK	PK	PK	PK	PK, PD	CP, PK	PK, PD	PK	PK	PK	PK, PD	PK, CP	PK, PD, CP	PK	PK	CP
5	50	5001, 5501	PD, CP	PK	PK	PK	PK	PK, PD	CP, PK	PK, PD	PK	PK	PK	PK, PD	PK, CP	PK, PD, CP	PK	PK	CP

а: Дополнительную кровь отбирали для получения лизата цельной крови перед введением дозы в день 1, через 24 ч в день 1, перед введением дозы в день 4, через 24 ч в день 4 и в день 8.

б: Дополнительную кровь отбирали для гематологических, клинических и биохимических анализов перед введением дозы в день 1, через 48 ч в день 1, через 48 ч в день 4, в день 8 и день 14.

5

Группа	Доза	№ животного	Время сбора образцов (ч)																
	(мг/кг)		День 1 - предв. доза ^{a,b}	День 1 -2ч	День 1 -4ч	День 1 -8ч	День 1 -12ч	День 1 - 24 ч ^a (День 2)	День 2-2ч	День 2-4ч	День 2-8ч	День 2-12ч	День 2- 24ч ^a (день 3)	День 2 - 48ч ^b (День 4)	День 2- 96 ч (День 6)	День 2- 120 ч (День 7)	День 2- 144 ч ^{a,b} (День 8)	День 2- 168 ч ^{a,b} (День 9)	День 14 ^b
6	25	6001, 6501	PD, CP	PK	PK	PK	PK	PK, PD	PK	PK	PK	PK	PK, PD	PK, CP	PK	PK	PK, PD, CP	PK	CP

а: Дополнительную кровь отбирали для получения лизата цельной крови перед введением дозы в день 1, через 24 ч в день 1, через 24 ч в день 2 и в день 8.

б: Дополнительную кровь отбирали для гематологических, клинических и биохимических анализов перед введением дозы в день 1, через 48 ч в день 1, через 48 ч в день 2, в день 8 и день 14.

10

Группа	Доза	№ животного	Время сбора образцов (ч)															
	(мг/кг)		День 1 - предв. доза ^{a,b}	День 1 -2ч	День 1 -4ч	День 1 -8ч	День 1 -12ч	День 1-24 ^a ч	День 3 – предв. доза ^{a,b}	День 7- предв. доза	День 7-2ч	День 7-4ч	День 7-8ч ^a	День 7-12ч ^b	День 7- 24ч ^{a,b} (день 8)	День 7- 48 ч (День9)	День 7- 96ч (День11)	День 7- 168ч ^{a,b} (День14)
7	--	7001, 7501	PD, CP	--	--	--	--	PD	PD, CP	--	--	--	--	--	PD, CP	--	--	PD, CP

8	3	8001, 8501	PD, CP	PK	PK	PK	PK	PK, PD	PD, CP	PK	PK	PK	PK	PK	PD, CP	PK	PK	PK, PD, CP
---	---	------------	--------	----	----	----	----	-----------	--------	----	----	----	----	----	--------	----	----	---------------

а: Дополнительную кровь отбирали для получения лизата цельной крови перед введением дозы в день 1, через 24 ч в день 1, перед введением дозы в день 3, через 24 ч в день 7 и в день 14.

5 б: Дополнительную кровь отбирали для гематологических, клинических и биохимических анализов перед введением дозы в день 1, перед введением дозы в день 3, через 24 ч в день 7 и в день 14.

Измерение массы тела перед введением дозы в день 1, день 4, день 7, день 14. Мониторинг клинического наблюдения за животным в течение 14 дней после введения дозы.

ФК относится к образцам плазмы.

5 Процедура получения лизата цельной крови для ФД:

Собрать достаточно крови для получения (2) аликвот. Каждая аликвота составляет 200 мкл.

1) Приготовить буферный раствор BD lyse/Fix 5x

10 Из вкладыша к продукту BD “разбавить необходимое количество буферного раствора BD Phosflow™ Lyse/Fix (концентрат 5X) в соотношении 1:5 деионизированной или дистиллированной водой (комнатной температуры), а затем предварительно нагреть раствор до 37°C. Рабочий раствор 1X следует готовить для каждого эксперимента, а любой оставшийся раствор в конце эксперимента следует выбрасывать”.

15 2) Зафиксировать клетки при переносе 200 мкл крови в 1,8 мл буферного раствора BD Lyse/Fix (разведение *1:10).

3) Инкубировать в течение 10 мин при комнатной температуре.

20 4) Центрифугировать клетки со скоростью 1400 об/мин в течение 5 мин. Отобрать и промыть 10 mM PBS/0,5% BSA (добавить этот буферный раствор до конечного объема 10 мл для центрифугирования)

5) Перенести клетки в центрифужные пробирки объемом 1,5 мл с 1,0 мл буферного раствора PBS/0,5% BSA, затем центрифугировать клетки при 1400 об/мин в течение 5 мин.

25 6) Отобрать и заморозить клеточный осадок (клеточный осадок без жидкости)

* Если лизис оказался неполным, можно довести до разведения 1:20 (200 мкл крови на 3,8 мл буферного раствора BD/Lyse/Fix.

Отбор крови для гематологического анализа

30 Цельную кровь (по меньшей мере 1,0 мл) через 168 ч после введения дозы отбирали у исследуемых животных в коммерческие пробирки с калием (K2) EDTA при комнатной температуре (КТ). Образцы крови отправляли в лабораторию клинической патологии при КТ и определяли гематологические параметры.

Гематологические параметры представляли как указано ниже:

Гематология	
Количество эритроцитов (RBC)	Ширина распределения эритроцитов по объему (RDW)
Гематокрит (HCT)	Количество тромбоцитов (PLT)
Гемоглобин (HGB)	Средний объем тромбоцита (MPV)
Средний объем эритроцита (MCV)	Количество лейкоцитов (WBC) и различие (абсолютное и в процентах)
Средний объем гемоглобина (MCH)	Абсолютное количество ретикулоцитов (Retic)
Среднеклеточная концентрация гемоглобина (MCHC)	

Обработка сыворотки для клинических биохимических анализов

- 5 Образцы цельной крови (приблизительно 1,0 мл) без антикоагулянта через 168 ч после введения дозы отбирали, выдерживали при комнатной температуре в вертикальном положении в течение по меньшей мере 30 мин и отправляли в лабораторию клинической патологии для анализа.

Параметры клинических биохимических анализов представляли, как указано ниже:

Клинические биохимические анализы	
Алкалинфосфатаза (ALP)	Общий белок (TP)
Аланинаминотрансфераза (ALT)	Альбумин (ALB)
Аспартатаминотрансфераза (AST)	γ-Глутамилтрансфераза (GGT)
Общий билирубин (TBIL)	Глобулин (GLB)
Фосфор (P)	Отношение альбумин/глобулин
Креатинин (CRE)	Натрий (Na)
Глюкоза (GLU)	Хлорид (Cl)
Кальций (Ca)	Триглицериды (TG)
Общий холестерин (TCHO)	Мочевина (UREA)
Калий (K)	

10

Цель исследования

Целью данного исследования являлось определение фармакокинетических параметров соединения А после однократного или повторного введения соединения А пероральным способом самцам и самкам яванских макак.

- 15 Исследуемое вещество измеряли в плазме в выбранные моменты времени в течение 14 дней после введения дозы.

Исследуемое вещество и информация о носителе

Исследуемое вещество

Название	Физическое состояние	Химическая формула	ММ/общ. М (г/моль)	Чистота (%)	Станд. куб. фут
Соединение А	Порошок	C ₄₅ H ₄₈ F ₃ N ₇ O ₆ S	871/871	98,9 %	1,0111

Условия хранения	Сушить при комнатной температуре, защищать от света
Инструкции по обращению с веществом	Стандартные меры предосторожности по безопасному обращению
Получение дозы	Получать дозы в соответствии с инструкциями спонсора. Копию инструкций, а также подробности получения хранить в протоколах исследования.
Образцы для анализа дозы в растворе	После получения каждой дозы следует отобрать по меньшей мере 20 мкл состава, переносить аликвоты в полипропиленовые пробирки для микроцентрифуги и хранить при температуре -60 °C или ниже до повторного анализа для подтверждения дозы.
Хранение оставшихся составов исследуемого соединения	Оставшиеся составы хранить при комнатной температуре.
Хранение оставшихся составов исследуемого соединения (сухого порошка или твердого вещества)	Оставшийся образец для испытаний хранить в сухом и защищенном от света месте при комнатной температуре и отправить обратно спонсору или утилизировать через 6 месяцев после подписания окончательного отчета или после утверждения спонсором.

Носитель и получение состава

Состав: 10% HP-β-CD в воде при pH 3,5 (мас./об.) в воде при pH 3,5

5 (мас./об.)

- Получить 10% HP-β-CD носитель на основе (мас./об.)
- Добавить соединение при перемешивании
- Нагревать при приблизительно 50°C в течение 10 мин. Можно также обработать ультразвуком.
- Довести pH до 3,5.
- Нагревать при приблизительно 50°C в течение еще 10-20 мин.
- Проверить pH и при необходимости довести до требуемой величины.

10

- Ожидаемая растворимость соединения составляет 10 мг/мл при 25°C.

Идентификация исследуемой системы

Характеристики животных

Виды	Яванские макаки
Обоснование выбора видов	Этот вид является приемлемым для проведения фармакокинетических исследований соединений, предназначенных для использования у людей.
История доз	Не наивные животные
Интервал массы тела	$\geq 2,5$ кг
Возраст	≥ 2 года
Пол	Самки и самцы
Количество животных для акклиматизации	11 самцов и 11 самок
Количество животных для дозирования	8 самцов и 58 самок
Обоснование числа животных	Количество животных в каждой группе представляет собой минимальное количество животных, необходимое для оценки внутривидовой изменчивости.
Выбор животных	Отбирали 11 самцов и 11 самок из доступного количества животных. Животных осматривали для оценки общего состояния здоровья. 8 самцов и 8 самок, которые были признаны здоровыми, направляли на исследование.
Период акклиматизации	Отобранных животных выдерживали для акклиматизации перед исследованием.

5

Уход за животными

Условия окружающей среды

Помещение(я) контролировали и определяли относительную влажность (требуемый средний диапазон от 40% до 70%, и любое отклонение от этого диапазона более чем на 3 ч регистрировали в качестве отклонения) и температура (требуемый средний диапазон от 18° до 26°C, и любое отклонение от этого диапазона регистрировали в качестве отклонения) при 10-20 сменах воздуха в час. В комнате поддерживали 12-часовой цикл свет/темнота, за исключением случаев, когда перерывы были необходимы для исследования.

Содержание животных

Животных по отдельности содержали в сетчатых клетках из нержавеющей стали в течение жизни.

Кормление и питание

- 5 Животных кормили два раза в день. исследуемым обезьянам ежедневно давали около 120 г сертифицированного корма для обезьян. Эти количества корректировали при необходимости на основании потребления пищи группой или индивидуальных изменений массы тела животного в группе или отдельного животного и/или изменений сертифицированного рациона. Кроме того,
- 10 животные ежедневно получали фрукты в качестве питательной добавки.

Схема кормления описана в Таблице 7-3-1.

Питьевая вода

RO (обратноосмотическая) вода была доступна для всех животным без ограничений.

- 15 Анализы корма и воды

Воду RO анализировали каждые три месяца, и каждую партию корма перед использованием анализировали. Анализы корма и воды хранили в учетных записях предприятия.

Окружающая среда

- 20 Были предоставлены развивающие игрушки. Свежие фрукты, полученные у поставщиков продуктов питания для людей, доставляли ежедневно, за исключением периодов голодания.

Введение лекарственного состава

Введение лекарственного состава

Способ введения	Перорально в виде через назогастральный зонд.
Обоснование уровня дозы	Уровни доз, выбранные для характеристики фармакокинетики исследуемого соединения у обезьян в диапазоне доз и концентраций в плазме, которые приблизительно соответствуют ожидаемому эффективному воздействию, с учетом умеренных многократных воздействий при увеличении воздействий с увеличением дозы. Ожидается, что эти дозы и полученные воздействия не вызовут каких-либо заболеваний или токсичности у нечеловекообразных приматов на основании ответной реакции грызунов на аналогичные диапазоны доз.

Обоснование способа введения	Данный способ введения находится в соответствии с предложенным первоначальным способом введения человеку или является необходимым для достижения цели исследования.
Введение дозы	Лекарственную форму вводили в соответствии с SOP учреждения. Перорально: Назогастральные дозы промывали с использованием 3 мл носителя (примерно 3-кратный объем назогастрального зонда). Все зонды должны быть одинакового размера и не различаться при обработке различных животных и иметь одинаковую длину, чтобы можно сопоставлять объем промывок.

Наблюдения и исследования

Клинические наблюдения

5 Дважды в день (приблизительно в 9:30 и 16:00) проводили наблюдения со стороны клетки на предмет общего состояния здоровья и внешнего вида. Перед первоначальным исследованием животных оценивали физическое состояние, чтобы подтвердить здоровье животных. День дозирования: до и после дозирования, а также до и после каждого момента времени отбора образца для ФК через 24 ч. После этого два раза в день. Общее состояние, поведение, активность, экскрецию, дыхание или другие необычные наблюдения, отмеченные на 10 протяжении всего исследования, регистрировали в виде первичных данных. При необходимости проводили и регистрировали дополнительные клинические наблюдения.

Масса тела

15 Всех животных взвешивали в день введения дозы перед введением дозы для определения объема дозы, подлежащей введению, а затем снова еженедельно.

Отбор образцов крови и мочи

20 Кровь: все образцы крови отбирали из периферического сосуда животных с фиксированным телом.

Животные: все доступны, все группы

Чистая плазма: Цельную кровь отбирали у доступного животного в коммерческие пробирки, содержащие калий (K2) ЭДТА при охлаждении во влажном льду, и обрабатывали для получения плазмы. Плазму объединяли, при 25 этом получали чистую плазму.

Предварительная доза и доза после введения

Объем крови: примерно 0,5 мл в каждый момент времени

Антикоагулянт: калий (K₂) ЭДТА

Частота: См. табл. 7-3-2. Фактическое время отбора образцов

5 регистрировали в протоколах исследования. Для образцов, отобранных в течение первого часа после дозировки, допускалось отклонение ± 1 мин. В остальные моменты времени образцы, отобранные в пределах 5% запланированного времени, являлись пригодными и не рассматривались в качестве отклонения от протокола.

10 Обработка образца для плазмы: 12,5 мкл 20% Tween 20 добавляли в коммерческие пробирки, содержащие калий (K₂) ЭДТА (0,85–1,15 мг) при охлаждении во влажном льду, 0,4–0,5 мл крови собирали в эти пробирки и обрабатывали для получения плазмы. Образцы центрифугировали (3000 g в течение 10 мин при температуре от 2 до 8°C) в течение одного ч после сбора.

15 Образцы плазмы (0,2 мл/образец) переносили в маркированные полипропиленовые пробирки для микроцентрифуги, соответственно, и хранили в замороженном виде в морозильной камере, пригодной для поддержания температуры -60°C или менее.

Анализ образцов и хранение

20 Проверка концентрации в лекарственной форме

Разрабатывали метод ЖХ/УФ или ЖХ/МС/МС с использованием калибровочной кривой, состоящей из 6 калибровочных стандартов.

Концентрации исследуемого соединения в образцах лекарственной формы определяли методом ЖХ/УФ или ЖХ/МС/МС.

25 Критерии приемлемости для аналитического цикла: не менее 5 из 6 калибровочных стандартов должны находиться в пределах 20% от номинальных значений при использовании метода ЖХ/УФ и 30% от номинальных значений при использовании метода ЖХ/МС/МС.

Разработка биоаналитического метода и анализ образцов

30 Разработка метода ЖХ-МС/МС

1. Метод ЖХ-МС/МС для количественного определения исследуемого соединения в биологической матрице разработан в соответствии с требованиями, отличающимися от правил GLP.

2. Для метода, включая LLOQ, использовали калибровочную кривую QC, содержащую по меньшей мере 7 ненулевых калибровочных стандартов.

3. Для метода применяли набор образцов QC, включающий низкую, среднюю и высокую концентрации.

5 4. Метод N в 1 кассете ЖХ-МС/МС разработан для образцов, полученных в ходе различных исследований, при условии, что эти исследования относятся к одному спонсору, а интерференцию между всеми аналитами в кассете оценивали в ходе разработки метода.

10 5. Анализ с введением кассет проводили при превышении различия масс (ΔMass) в различных аналитах на величину 4 Да. В этом случае оценка не являлась необходимой.

15 При ΔMass среди различных аналитов менее 4 Да существовал потенциальный риск возникновения помех во время анализа ЖХ-МС/МС. При необходимости проведения такого вида кассетного анализа по запросу спонсора исследования интерференцию между аналитами не оценивали, но предпринимали попытку ЖХ-разделения этих аналитов с использованием общего метода. При невозможности разделения таких аналитов клиенту направляли уведомление и требовалась документация по протоколу эксперимента.

20 6. Биологический образец в матрице, отличной от плазмы, сначала разбавляли плазмой, а затем проводили количественный анализ по калибровочной кривой плазмы. Соответствующие QC разбавления для обеспечения точности разбавления и различия матриц включали в аналитический цикл.

25 Анализ образцов

1. Если количество образцов в партии ≤ 12 , по меньшей мере один набор стандартных кривых, разделенных на две части в начале и в конце последовательности, включали в цикл, и калибровочная кривая не требовалась. Рекомендуемый порядок инъекций: C8, C6, C4, C2, исследуемые образцы, C7, C5, C3, C1.

30 2. Если количество образцов в партии >12 , для биоанализа применяли одну стандартную кривую и два набора образцов для QC с низкой, средней и

высокой концентрацией, при этом количество образцов для QC составляло более 5% от количества исследуемых образцов.

3. Образцы, поступившие от одного клиента с одним и тем же типом матрицы, но полученные в ходе различных исследований, количественно определяли в одном цикле анализа с использованием разработанного метода N в 1 кассете ЖХ-МС/МС.

4. Биологические образцы в матрице, отличной от плазмы, рекомендуется разбавлять плазмой, а затем количественно определять по калибровочной кривой плазмы. Соответствующие разбавления QC для обеспечения точности разбавления и различия матриц включали в аналитический цикл. По специальному запросу спонсора биологические образцы количественно оценивали по калибровочным кривым в их собственных соответствующих матрицах.

Критерии приемлемости

1. Линейность: $\geq 75\%$ стандартных доз (STD) рассчитывали по результатам полученных данных с точностью до $\pm 20\%$ от их номинальных значений в биожидкости и в пределах 25% от их номинальных значений в образцах тканей и фекалий.

2. Точность: $\geq 67\%$ всех образцов QC рассчитывали по результатам полученных данных с точностью до $\pm 20\%$ от их номинальных значений для биожидкости и в пределах 25% от их номинальных значений для образцов тканей и фекалий.

3. Специфичность: средняя рассчитанная концентрация в одной пустой матрице составляла $\leq 50\%$ LLOQ.

4. Чувствительность:

4.1 Если биологические образцы в матрице, отличающейся от плазмы, разбавляли плазмой и количественно определяли по калибровочной кривой плазмы, LLOQ калибровочной кривой плазмы могла достигать требуемой величины ≤ 2 нг/мл, что эквивалентно $LLOQ \leq 4$ нг/мл в биологической матрице, отличающейся от плазмы (при использовании 2-кратного разведения).

4.2 Если биологические образцы количественно оценивали по калибровочным кривым, полученным с использованием соответствующей матрицы, LLOQ могла достигать требуемого уровня ≤ 3 нг/мл.

О любых корректировках LLOQ спонсору сообщали заранее.

5. Эффект “следового переноса”: Средняя расчетная площадь переноса в пустой матрице сразу после введения стандарта с самой высокой концентрацией должна быть меньше, чем величина LLOQ. Если перенос не соответствует критериям, его влияние на неизвестные образцы оценивали в соответствии со следующей процедурой. Оценку переноса проводили в соответствии с абсолютным переносом. Вклад переноса рассчитывали как отношение площади контроля с наибольшим переносом (максимальная площадь контроля переноса) к величине ULOQ с минимальным расчетным значением (площадь min ULOQ).

Влияние переноса рассчитывали как отношение площади одной инъекции (площадь одной инъекции) к площади следующей инъекции (площадь следующей инъекции). Абсолютный перенос рассчитывали при умножении вклада переноса на эффект переноса, значение абсолютного переноса составляло менее 20%.

Вклад переноса = максимальная площадь контроля переноса / минимальная площадь ULOQ

Влияние переноса = площадь одной инъекции / площадь следующей инъекции

Абсолютный перенос = вклад переноса * влияние переноса

7.4. Результаты

В табл. 11 и 12 указано, что используют как внутривенную, так и пероральную схемы дозировки лекарственных средств.

Таблица 11.

Введение внутривенным способом нечеловекообразным приматам (NHP)

Доза при введении внутривенным способом (мг/кг)	Схема дозировок	Требуемый диапазон воздействия (Ly10-DHL2) AUC ₀₋₁₆₈ (пкМ*ч)	Прогнозируемое многократное воздействие (Ly10-DHL2)	Клинические наблюдения
10	D1	24 - 72	1,1 – 0,37	Отсутствуют
20			2,2 – 0,75	Отсутствуют
5	D1,2	12- 36	1,7 – 0,6	Отсутствуют
10	D1,2		4,4 – 1,5	Отсутствуют

Гематомочевину наблюдали у крыс при ≥ 100 мг/кг (болюсное введение внутривенным способом), но не наблюдали у нечеловекообразных приматов (медленное введение внутривенным способом).

Таблица 12

5 Дозировки при введении пероральным способом нечеловекообразным приматам

Доза при введении пероральным способом (мг/кг)	Схема дозировок	Требуемый диапазон воздействия (Ly10-DHL2) AUC ₀₋₁₆₈ (пкМ*ч)	Прогнозируемое многократное воздействие (Ly10-DHL2)	Клинические наблюдения
50	D1	18 - 54	1,2 – 0,4	Диарея
100			1,3 – 0,4	Диарея, рвота
10	D1, D4	7-18	1,9 – 0,7	Диарея
25			2,9 – 1,1	Диарея, рвота
50			2,6 – 1,2	Диарея, рвота
25	D1, D2		3 – 1.2	Диарея, рвота

Диарею наблюдали во всех группах, в которых вводили соединение А, и рвоту наблюдали при более высоких дозах (100 ежедневно QD и >25 дважды в сутки BID).

Пример 8

10 Исследование лимфопении

Было установлено, что лимфопения при прерывистом введении является временной (выздоровление к дням 7-14), наблюдается тенденция к зависимости от дозы/воздействия (самый низкий уровень и более быстрое выздоровление при более низких дозах), и лимфопения развивается в равной степени как при

15 внутривенной, так и при пероральной дозировке доз.

На фиг. 5 указано, что соединение А обеспечивает стабильный фармако-динамический эффект на опухоли OCI-Ly10, при этом поддерживается требуемое покрытие при введении прерывистым способом.

Пример 9

20 Клинические схемы дозировок

Доклинические данные поддерживают несколько клинических схем дозировок с различной интенсивностью и перерывом между дозировками.

Исследование токсичности, не по правилам GLP, способствует выбору предпочтительной схемы и продолжительности перерыва/цикла дозирования.

На фиг. 6 указаны несколько клинических схем дозировок, подтвержденных доклиническими данными, включая схемы высокой, средней и низкой интенсивности. Схемы могут поддерживать дозировку еженедельно QW или два раза в неделю BIW в течение 2 или 3 недель подряд или через неделю в течение 3х или 4х-недельного цикла.

Пример 10

Дизайн исследования по определению дозы

На фиг. 7 указана схема исследования по определению дозировки. В основном исследовании оценивают безопасность, токсикокинетику (ТК) и фармакодинамику в крови у крыс и нечеловекообразных приматов NHP. Во вспомогательных группах оценивают ФД и ФК в тканях, соседних с участками дозирования у NHP.

Пример 11

Прогнозирование дозы для человека

Прогнозы дозы для человека при прерывистой дозировке подтверждают требуемые дозы как для введения внутривенным, так и пероральным способом. В табл. 13 указано прогнозирование дозы для человека при сопоставлении параметров AUC с соответствующей прерывистой схемой дозировки в моделях на мышах.

Таблица 13

Прогнозирование дозы для человека

Мышь					Человек	
Модель	Способ введения (ROA)	Доза (мг/кг)	Схема	AUC в неделю (мкМ·ч)	Схема	Предполагаемая доза для человека (мг на дозу)
OCI-Ly10	Пероральный	30	QW	18	QW	1600
	Внутривенный	12		24		400
	Пероральный	10	BIW	7	BIW	300
	Внутривенный	3		12		100
DHL2	Пероральный	30	BIW	18	BIW	900
	Внутривенный	~10 (оценочные данные)		36 (оценочные данные)		300

- Можно использовать состав для введения внутривенным способом до 300 мг/доза (воздействие для эффективности составляет 100-300 мг/доза). Можно также предположительно использовать дозировку до ≥ 400 мг ($> 80\%$ порошок для приготовления пероральной суспензии (POS) на основе первоначальной оценки состава). Можно использовать прогнозируемую максимальную дозу при введении пероральным способом 900 мг/день. Дозу можно делить на дозировку BID для достижения воздействия. Может потребоваться большее количество таблеток или необычная схема введения (например, смешение и прием).
- Сравнение введения пероральным и внутривенным способом приведено в табл. 14.

Таблица 14

Введение пероральным способом в сравнении с введением внутривенным способом

	Введение внутривенным способом	Введение пероральным способом
Эффективность	Эффективность является одинаковой для обоих способов введения	
Безопасность	• Не наблюдали желудочно-кишечных проявлений при воздействии до 4,4X MED. • Снижение лимфоцитов носило временный характер - Нижний предел являлся быстрым (к D4), при этом выздоровление до нормального уровня обычно происходило к D8 - Можно использовать еженедельные схемы дозирования • Признаки гематурии у крыс, которым вводили более высокие дозы при введении внутривенным способом (при воздействии выше MED) - Не наблюдается у нечеловекообразных приматов (NHP): использование более медленного введения может решить проблему	• Достаточно переносимые желудочно-кишечные проявления (например, диарея и рвота), которые наблюдали во всех группах, в которых вводили дозы TA PO • Снижение лимфоцитов носило временный характер - Самый нижний предел достигался быстро (к D4), при этом выздоровление до нормального уровня обычно происходило к D8 - Можно использовать еженедельные схемы дозирования

Удобство	• Менее удобно: необходимо 1 или 2 посещения врача для вливания на постоянной основе (всего 4–6 посещений за цикл).	• Введение пероральным способом более удобно. • Введение пероральным способом более удобно для введения комбинаций • Введение пероральным способом позволяет использовать схемы поддерживающей дозы на ранних стадиях лечения.
Осуществимость	• Состав для введения внутривенным способом до 300 мг/дозу (MED соответствует дозе 100 мг) - - Можно использовать дозировку до 400 мг (>80% POS)	• Прогнозируемая максимальная доза 900 мг/день. • Может потребоваться большее количество таблеток или необычная схема введения (например, смешение и прием).

MED (средняя эффективная доза), POS (вероятность успеха).

Пример 12

Исследования ксенотрансплантата комбинаций

5 Цель исследования: цель заключалась в оценке эффективности комбинаций соединения А на модели диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы человека OCI-LY10 у самок мышей CB-17 SCID.

10 Культура клеток: Опухолевые клетки OCI-LY10 поддерживали в виде суспензии в среде RPMI1640 в присутствии 10% эмбриональной телячьей сыворотки и 100 мкг/мл пенициллина/100 мкг/мл стрептомицина (исследование 1) или 1% антибиотика-антимикотика (исследование 2) при 37 °C в атмосфере с 5% CO₂ в воздухе. Опухолевые клетки обычно дважды в неделю пересевали при обработке трипсином-ЭДТА. Клетки в фазе экспоненциального роста собирали и подсчитывали их количество для введения в опухоль.

15 Животные: CB-17 SCID, самки, 6-8 недель, массой приблизительно 18-22 г. Всего в исследовании использовали 56 животных (исследование 1) и 66 животных (исследование 2).

20 Введение в опухоль: Каждой мышце вводили в правый бок подкожным способом опухолевые клетки OCI-LY10 (10×10^6) в 0,2 мл PBS с матригелем для развития опухоли. Лечение начинали, когда размеры опухоли для исследования

достигали 100 мм³. Введение исследуемого соединения/составов и количество животных в каждой группе представлены в следующих таблицах.

Таблица 15

Исследование составов 1

Соединения	Упаковка	Получение	Концентрация мг/мл	Хранение
Носитель внутривенным способом	-	10%HPβCD: 5% TPGS в воде при pH 5-6	-	4°C
Носитель пероральным способом		0,5% метилцеллюлоза	-	4°C
Соединение А	Фактор коррекции = 1,02 150,03 мг/флакон	Взвесить 2,0196 мг соединения А непосредственно во флакон из темного стекла, растворить в 0,33 мл TPGS, перемешать на вортексе и обработать ультразвуком. Затем добавить 6,27 мл 10% HPβCD, перемешать на вортексе и обработать ультразвуком до получения гомогенной суспензии. Довести pH до 1–2 с использованием 6 н. HCl, затем снова довести pH до 5–6 с использованием 5 н. NaOH, чтобы получить прозрачный раствор с концентрацией 0,3 мг/мл.	0,3	4°C
	0,3 мг/мл	Отобрать дозатором 1,2 мл раствора с концентрацией 0,3 мг/мл в прозрачный флакон из темного стекла и добавить 2,4 мл носителя, при этом получить однородный раствор, при осторожном переворачивании флакона вверх и вниз.	0,1	4°C
Ибрутиниб		Взвесить 26,25 мг ибрутиниба непосредственно во флакон из темного стекла. Растворить в 21 мл 0,5% метилцеллюлозы, при этом получить однородную суспензию.	1,25	4°C

Соединения	Упаковка	Получение	Концентрация мг/мл	Хранение
Ритуксан	100 мг: 10 мл/флакон	Отобрать дозатором 0,180 мл раствора ритуксана с концентрацией 10 мг/мл в прозрачный флакон темного стекла и добавить 0,720 мл 0,9% солевого раствора, при этом получить однородный раствор, при осторожном переворачивании флакона вверх и вниз.	2	4°C
Ритуксан	100 мг: 10 мл/флакон	Отобрать дозатором 0,360 мл раствора ритуксана с концентрацией 10 мг/мл в прозрачный флакон темного стекла и добавить 3,240 мл 0,9% солевого раствора, при этом получить однородный раствор, при осторожном переворачивании флакона вверх и вниз.	1	4°C
Доксорубицин	10 мг/флакон	Растворить 10 мг доксорубицина в исходном флаконе в 4 мл 0,9% солевого раствора, при этом получить раствор с концентрацией 2,5 мг/мл.	2,5	4°C
Доксорубицин	2,5 мг/флакон	Отобрать дозатором 0,240 мл раствора доксорубицина с концентрацией 2,5 мг/мл в прозрачный флакон темного стекла и добавить 0,760 мл 0,9% солевого раствора, при этом получить однородный раствор, при осторожном переворачивании флакона вверх и вниз.	0,6	4°C
Винкристин	1 мг/флакон 0,2 мг/мл	Отобрать дозатором 0,750 мл раствора винкристина с концентрацией 0,2 мг/мл в прозрачный флакон темного стекла и добавить 2,250 мл 0,9% солевого раствора, при этом получить однородный раствор, при осторожном переворачивании флакона вверх и вниз.	0,05	4°C

Соединения	Упаковка	Получение	Концентрация мг/мл	Хранение
Циклофосфамид	200 мг/флакон 20 мг/мл	Отобрать дозатором 0,600 мл раствора циклофосфамида с концентрацией 20 мг/мл в прозрачный флакон темного стекла и добавить 2,400 мл 0,9% солевого раствора, при этом получить однородный раствор, при осторожном переворачивании флакона вверх и вниз.	4	4°C
Преднизон	25 мг/флакон	Взвесить 2,00 мг преднизона непосредственно во флакон из темного стекла. Растворить в 20 мл 0,9% солевого раствора, при этом получить однородную суспензию.	0,1	4°C

Таблица 16

Схемы введения исследования 1

Группа	n	Введение	Доза (мг/кг)	Объем дозы	Способ введения	Схема введения
1	6	Носитель пероральным способом	-	10 мкл/г	Пероральный	QDx21
		Носитель внутривенным способом	-	10 мкл/г	Внутривенный	QW
2	6	Ибрутиниб	12,5	10 мкл/г	Пероральный	QDx21
3	6	Соединение А	1	10 мкл/г	Внутривенный	D1,2,8,9,15,16,22,23
4	6	Соединение А	3	10 мкл/г	Внутривенный	D1,2,8,9,15,16,22,23
5	6	Ибрутиниб	12,5	10 мкл/г	Пероральный	QDx21
		Соединение А	1	10 мкл/г	Внутривенный	D1,2,8,9,15,16,22,23
6	6	Ибрутиниб	12,5	10 мкл/г	Пероральный	QDx21
		Соединение А	3	10 мкл/г	Внутривенный	D1,2,8,9,15,16,22,23
7	6	Ритуксан	10	10 мкл/г	Внутрибрюшинный	BIW
8	6	Ритуксан	10	10 мкл/г	Внутрибрюшинный	BIW
		Соединение А	3	10 мкл/г	Внутривенный	D1,2,8,9,15,16,22,23
9	6	R-CHOP (SoC сссылка)*		5 мкл/г		

5 n означает число животных, объем дозы означает доведение объема дозы в расчете на массу тела.

R-CHOP:

Агент	Доза (мг/кг)	Объем дозы	Способ введения	Схема введения
Ритуксан	10	5 мкл/г	Внутрибрюшинный	D1
Доксорубицин	3	5 мкл/г	Внутривенный	D1
Винкристин	0,25	5 мкл/г	Внутривенный	D1
Циклофосфамид	20	5 мкл/г	Внутривенный	D1
Преднизон	0,5	5 мкл/г	Пероральный	D1,2,3,4,5

За 3 дня до начала лечения гель/добавку добавляли в корм всем исследуемым животным. Соединение разбавляли до необходимого объема дозировки 0,9% солевым раствором.

Последовательность дозировки R-CHOP: ритуксан, внутрибрюшинным способом, доксорубицин, внутривенным способом через 15 мин после введения ритуксана, винкристин, внутривенным способом через 15 мин после введения доксорубицина, циклофосфамид, внутривенным способом через 15 мин после введения винкристина, преднизон, пероральным способом через 15 мин после введения циклофосфамида.

Таблица 17

Составы исследования 2

Соединения	Упаковка	Получение	Концентрация, мг/мл	Хранение
Ибрутиниб (0,5% метилцеллюлоза)	5 г/флакон Фактор коррекции: 1,00	Взвесить 26,25 мг ибрутиниба непосредственно во флаконе из темного стекла. Растворить в 21 мл 0,5% метилцеллюлозы, при этом получить однородную суспензию.	1,25	4°C
СА-4948 (50 частей 1% твин 20 в воде и 50 частей 0.5% гидрокси-этилцеллюлозы)	2 г/флакон Фактор коррекции: 1,00	Взвесить 157,5 мг СА-4948 непосредственно во флаконе темного стекла. Растворить в 5,250 мл 1% Tween 20 в воде, перемешать на вортексе и обработать ультразвуком. Затем добавить 5,250 мл 0,5% гидрокси-этилцеллюлозы в воде, перемешать на вортексе и обработать ультразвуком, при этом получить суспензию с концентрацией 15,0 мг/мл.	15	4°C
Ритуксан (0,9% солевой раствор)	100 мг: 10 мл/флакон	Отобрать дозатором 0,50 мл раствора ритуксана с концентрацией 10 мг/мл в прозрачный флакон из темного стекла и добавить 4,500 мл 0,9% солевого раствора, при этом получить однородный раствор, при осторожном переворачивании флакона вверх и вниз.	1	4°C

Соединения	Упаковка	Получение	Концентрация, мг/мл	Хранение
Венетоклакс (5% ДМСО+50% ПЭГ 300+5% твин 80+ddH ₂ O)	1 г/флакон Фактор коррекции: 1,00	Взвесить 105 мг венетоклакса непосредственно во флакон из темного стекла. Тщательно растворить его в 1,05 мл ДМСО, затем добавить 10,5 мл ПЭГ 300 и 1,05 мл твин 80, интенсивно перемешать. Затем разбавить раствор 8,4 мл воды, при этом получить 21 мл раствора с концентрацией 5 мг/мл.	5	4°C
Соединение А (10%HPβCD:5% TPGS в воде с pH pH 5-6)	100,06 мг/флакон Фактор коррекции= 1,02	Взвесить 2,5704 мг IRW-O-2019-018N непосредственно во флакон из темного стекла, растворить его в 0,420 мл TPGS, перемешать на вортексе и обработать ультразвуком. Затем добавить 7,980 мл 10% HPβCD, перемешать на вортексе и обработать ультразвуком, при этом получить гомогенную суспензию. Довести pH до 1–2 с использованием 6 н. HCl, затем снова довести pH до 5–6 с использованием 5 н. NaOH, при этом получить прозрачный раствор с концентрацией 0,3 мг/мл.	0,3	4°C
	0,3 мг/мл	Отобрать дозатором 1,200 мл раствора с концентрацией 0,3 мг/мл в прозрачный флакон из темного стекла и добавить 2,400 мл носителя для внутривенного введения, при этом получить однородный раствор, осторожно поворачивая флакон вверх и вниз.	0,1	4°C

Таблица 18

Схемы введения исследования 2

Группа	n	Введение	Доза (мг/кг)	Объем дозы	Способ введения	Схема введения
1	6	Носитель для перорального введения (50 частей 1% твин 20 в воде и 50 частей 0,5% гидроксиэтилцеллюлозы)	-	10 мкл/г	Пероральный	QDx21
2	6	Ибрутиниб	12,5	10 мкл/г	Пероральный	QDx21
3	6	СА-4948	150	10 мкл/г	Пероральный	QDx21
4	6	Ритуксан	10	10 мкл/г	Внутривенный	BIW
5	6	Венетоклакс	50	10 мкл/г	Пероральный	QDx21
6	6	Соединение А	1	10 мкл/г	Внутривенный	D1,2,15,16
7	6	Соединение А	3	10 мкл/г	Внутривенный	D1,2,15,16
8	6	Ритуксан	10	10 мкл/г	Внутривенный	BIW
		Соединение А	1	10 мкл/г	Внутривенный	D1,2,15,16
9	6	Ритуксан	10	10 мкл/г	Внутривенный	BIW
		Соединение А	3	10 мкл/г	Внутривенный	D1,2,15,16

Группа	n	Введение	Доза (мг/кг)	Объем дозы	Способ введения	Схема введения
10	6	Ибрутиниб	12,5	10 мкл/г	Пероральный	QDx21
		Соединение А	3	10 мкл/г	Внутривенный	D1,2,15,16
11	6	Венетоклакс	50	10 мкл/г	PO	QDx21
		Соединение А	3	10 мкл/г	IV	D1,2,15,16

n означает число животных, объем дозы означает доведение объема дозы в расчете на массу тела.

5 Распределение по группам: Перед началом лечения всех животных взвешивали и измеряли объемы опухолей. Поскольку объем опухоли может влиять на эффективность соединения, мышей рандомизировали по группам с использованием процедуры рандомизации в программе Excel, выполняющей стратифицированную рандомизацию на основе их объемов опухоли.

10 Содержание животных: период акклиматизации составлял приблизительно одну неделю между получением животных и введением в опухоли, чтобы приучить животных к лабораторной среде. Мышей содержали в специальной свободной от патогенов среде и в индивидуальных вентилируемых клетках (по 3 мыши в клетке). Все клетки, подстилку и воду стерилизовали перед использованием. При работе в комнате с мышами исследователи носили в 15 лабораторные халаты и латексные или виниловые перчатки. Каждую клетку отчетливо помечали карточкой клетки с указанием количества животных, пола, штамма, даты получения, лечения, номера исследования, номера группы и даты начала лечения. Клетки с кормом и водой меняли два раза в неделю. Требуемые условия помещения для животных и длина светового дня включали следующие 20 параметры: температура 20~26 °C, влажность 40~70 %, световой цикл 12 ч света и 12 ч темноты.

25 Корм: Все животные имели свободный доступ к стандартному сертифицированному коммерческому лабораторному корму. Производители контролировали и регулярно анализировали максимально допустимые концентрации загрязняющих веществ в корме. Автоклавированная городская водопроводная вода, пригодная для потребления человеком, находилась для животных в свободном доступе.

Результаты: На фиг. 10-12 показаны результаты исследований комбинаций.

На фиг. 10 указано, что соединение А является аддитивным в комбинации с ибрутинибом в мутантных ксенотрансплантатах MYD88 OCI-Ly10. Данные свидетельствуют о том, что соединение А, которое вводят по прерывистым схемам, характеризуются аддитивной активностью со значительной регрессией в комбинации с ингибиторами ВТК (например, ибрутинибом).

На фиг. 11 показано, что соединение А является сверхаддитивным (определено независимым методом Блисса) в комбинации с венетоклаксом в мутантных ксенотрансплантатах MYD88 OCI-Ly10. Данные свидетельствуют о том, что соединение А, которое вводят по прерывистым схемам, характеризуется сверхаддитивной активностью со значительной и стабильной регрессией в комбинации с ингибиторами BCL-2 (например, венетоклаксом).

На фиг. 12 показано, что соединение А является сверхаддитивным (определено независимым методом Блисса) в комбинации с ритуксимабом в мутантных ксенотрансплантатах MYD88 OCI-Ly10 (верхний график), включая опухоли, которые рецидивировали после первоначального лечения R-CHOP (нижний график). Данные свидетельствуют о том, что соединение А, которое вводят по прерывистым схемам, характеризуется значительной и стабильной регрессией в комбинации с анти-CD20-антителом (например, ритуксимабом), и комбинация также характеризуется значительной регрессией опухоли в опухолях, которые рецидивировали после первоначального лечения R-CHOP.

Несмотря на то, что авторами настоящего изобретения был описан ряд вариантов осуществления настоящего изобретения, представляется очевидным, что основные описанные примеры можно изменять для обеспечения других вариантов осуществления, в которых используют соединения и способы по настоящему изобретению. Поэтому следует понимать, что объем настоящего изобретения должен определяться прилагаемой формулой изобретения, а не конкретными вариантами осуществления, которые были представлены в качестве примера.

ПЕРВОНАЧАЛЬНАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения MyD88-мутантной В-клеточной лимфомы у
нуждающегося в таком лечении пациента, включающий введение
5 терапевтически эффективного количества соединения А или его
фармацевтически приемлемой соли пациенту,

где соединением А является N-(2-((1r,4r)-4-((6-(2-((2-(2,6-
диоксопиперидин-3-ил)-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)амино)этил)-2-
азаспиро[3.3]гептан-2-ил)метил)циклогексил)-5-(2-гидроксипропан-2-
10 ил)бензо[d]тиазол-6-ил)-6-(трифторметил)пиколинамид.

2. Способ по п. 1, где соединение А или его фармацевтически приемлемую
соль вводят пациенту в дозе до 1600 мг.

15 3. Способ по п. 1 или п. 2, где соединение А или его фармацевтически
приемлемую соль вводят пациенту в дозе до 900 мг.

4. Способ по любому из пунктов 1-3, где соединение А или его
фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту в дозе до 400 мг.

20 5. Способ по любому из пунктов 1-4, где соединение А или его
фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту в дозе до 300 мг.

25 6. Способ по п. 1, где соединение А или его фармацевтически приемлемую
соль вводят в дозе от приблизительно 300 мг до приблизительно 900 мг.

7. Способ по п. 1, где соединение А или его фармацевтически приемлемую
соль вводят в дозе от приблизительно 100 мг до приблизительно 300 мг.

30 8. Способ по п. 1, где соединение А или его фармацевтически приемлемую
соль вводят в дозе от приблизительно 30 мг/м² до приблизительно 90 мг/м².

9. Способ по п. 1, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе от приблизительно 10 мг/м² до приблизительно 40 мг/м².

5 10. Способ по любому из пунктов 1-9, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту перорально.

10 11. Способ по п. 10, где пероральное введение пациенту соединения А включает растворы, суспензии, эмульсии, таблетки, пилюли, капсулы, порошки или составы с замедленным высвобождением.

12. Способ по любому из пунктов 1-9, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту внутривенно.

15 13. Способ по п. 12, где внутривенное введение пациенту соединения А включает стерильные растворы для инъекций.

14. Способ по любому из пунктов 1-13, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один раз в неделю.

20 15. Способ по любому из пунктов 1-13, где введение соединения А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту два раза в неделю.

25 16. Способ по п. 15, где введение соединения А или его фармацевтически приемлемой соли проводят в день 1 и день 2 в течение недели.

17. Способ по п. 15, где введение соединения А или его фармацевтически приемлемой соли проводят в день 1 и день 4 в течение недели.

30 18. Способ по любому из пунктов 1-13, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один раз в неделю в течение недели 1 и недели 2 в ходе 3-х недельного цикла введения.

19. Способ по любому из пунктов 1-13, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту два раза в неделю в течение недели 1 и недели 2 в ходе 3-х недельного цикла введения.

5 20. Способ по любому из пунктов 1-13, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один раз в неделю в течение недели 1 и недели 2 в ходе 4-х недельного цикла введения.

10 21. Способ по любому из пунктов 1-13, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту два раза в неделю в течение недели 1 и недели 2 в ходе 4-х недельного цикла введения.

15 22. Способ по любому из пунктов 1-13, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один раз в неделю в течение недели 1 и недели 2 в ходе 4-х недельного цикла введения.

20 23. Способ по любому из пунктов 1-13, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту два раза в неделю в течение недели 1 и недели 2 в ходе 4-х недельного цикла введения.

24. Способ по любому из пунктов 1-13, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один раз в неделю в течение недели 1 и недели 3 в ходе 4-х недельного цикла введения.

25 25. Способ по любому из пунктов 1-13, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту два раза в неделю в течение недели 1 и недели 3 в ходе 4-х недельного цикла введения.

30 26. Способ по любому из пунктов 1-13, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один раз в неделю в течение недель 1-3 в ходе 4-х недельного цикла введения.

27. Способ по любому из пунктов 1-13, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту два раза в неделю в течение недель 1-3 в ходе 4-х недельного цикла введения.

5 28. Способ по любому из пунктов 1-27, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде фармацевтической композиции, включающей один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов или носителей.

10 29. Фармацевтическая композиция по п. 28, где один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов или носителей включает один или более разбавителей, консервантов, связующих веществ, смазывающих веществ, дезинтегрирующих агентов, набухающих агентов, наполнителей или стабилизаторов.

15 30. Фармацевтическая композиция по п. 28, где один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов или носителей включает одно или более буферных веществ, поверхностно-активных веществ, диспергирующих агентов, эмульгаторов или модифицирующих вязкость агентов.

20 31. Способ по любому из пунктов 1-30, где В-клеточная лимфома с MYD88 мутацией выбрана из лимфом ABC DLBCL, первичных лимфом ЦНС, первичных экстранодальных лимфом, макроглобулинемии Вальденстрема, лимфомы Ходжкина, первичной кожной Т-клеточной лимфомы и хронического
25 лимфоцитарного лейкоза.

32. Способ по любому из пунктов 1-31, где пациент прошел по меньшей мере один курс предварительной терапии.

30 33. Способ по любому из пунктов 1-32, где пациентом является человек.

34. Применение соединения А или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства, предназначенного для лечения MYD88-

мутантной В-клеточной лимфомы у пациента, нуждающегося в таком лечении, где соединением А является N-(2-((1г,4г)-4-((6-(2-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)амино)этил)-2-азаспиро[3.3]гептан-2-ил)метил)циклогексил)-5-(2-гидроксипропан-2-ил)бензо[d]тиазол-6-ил)-6-(трифторметил)пиколинамид.

35. Применение по п. 34, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту в дозе до 1600 мг.

36. Применение по п. 34 или п. 35, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту в дозе до 900 мг.

37. Применение по любому из пунктов 34-36, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту в дозе до 400 мг.

38. Применение по любому из пунктов 34-37, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту в дозе до 300 мг.

39. Применение по п. 34, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе от приблизительно 300 мг до приблизительно 900 мг.

40. Применение по п. 34, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе от приблизительно 100 мг до приблизительно 300 мг.

41. Применение по п. 34, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе от приблизительно 30 мг/м² до приблизительно 90 мг/м².

42. Применение по п. 34, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе от приблизительно 10 мг/м² до приблизительно 40 мг/м².

43. Применение по любому из пунктов 34-42, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту перорально.

5 44. Применение по п. 43, где пероральное введение пациенту соединения А включает растворы, суспензии, эмульсии, таблетки, пилюли, капсулы, порошки или составы с замедленным высвобождением.

10 45. Применение по любому из пунктов 34-42, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту внутривенно.

46. Применение по п. 45, где внутривенное введение пациенту соединения А включает стерильные растворы для инъекций.

15 47. Применение по любому из пунктов 34-46, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят один раз в неделю.

48. Применение по любому из пунктов 34-46, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту два раза в неделю.

20 49. Применение по п. 48, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят в день 1 и день 2 в течение недели.

25 50. Применение по п. 48, где введение соединения А или его фармацевтически приемлемой соли проводят в день 1 и день 4 в течение недели.

51. Применение по любому из пунктов 34-46, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один раз в неделю в течение недели 1 и недели 2 в ходе 3-х недельного цикла введения.

30 52. Применение по любому из пунктов 34-46, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту два раза в неделю в течение недели 1 и недели 2 в ходе 3-х недельного цикла введения.

53. Применение по любому из пунктов 34-46, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один раз в неделю в течение недели 1 и недели 2 в ходе 4-х недельного цикла введения.

5

54. Применение по любому из пунктов 34-46, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту два раза в неделю в течение недели 1 и недели 2 в ходе 4-х недельного цикла введения.

10 55. Применение по любому из пунктов 34-46, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один раз в неделю в течение недели 1 и недели 2 в ходе 4-х недельного цикла введения.

15 56. Применение по любому из пунктов 34-46, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту два раза в неделю в течение недели 1 и недели 2 в ходе 4-х недельного цикла введения.

20 57. Применение по любому из пунктов 34-46, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один раз в неделю в течение недели 1 и недели 3 в ходе 4-х недельного цикла введения.

25 58. Применение по любому из пунктов 34-46, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту два раза в неделю в течение недели 1 и недели 3 в ходе 4-х недельного цикла введения.

59. Применение по любому из пунктов 34-46, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту один раз в неделю в течение недель 1-3 в ходе 4-х недельного цикла введения.

30 60. Применение по любому из пунктов 34-46, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят пациенту два раза в неделю в течение недель 1-3 в ходе 4-х недельного цикла введения.

61. Применение по любому из пунктов 34-60, где соединение А или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде фармацевтической композиции, включающей один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов или носителей.

5

62. Фармацевтическая композиция по п. 61, где один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов или носителей включает один или более разбавителей, консервантов, связующих веществ, смазывающих веществ, дезинтегрирующих агентов, набухающих агентов, наполнителей или стабилизаторов.

10

63. Фармацевтическая композиция по п. 61, где один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов или носителей включает одно или более буферных веществ, поверхностно-активных веществ, диспергирующих агентов, эмульгаторов или модифицирующих вязкость агентов.

15

64. Применение по любому из пунктов 34-63, где В-клеточная лимфома с MYD88-мутацией выбрана из лимфом ABC DLBCL, первичных лимфом ЦНС, первичных экстранодальных лимфом, макроглобулинемии Вальденстрема, лимфомы Ходжкина, первичной кожной Т-клеточной лимфомы и хронического лимфоцитарного лейкоза.

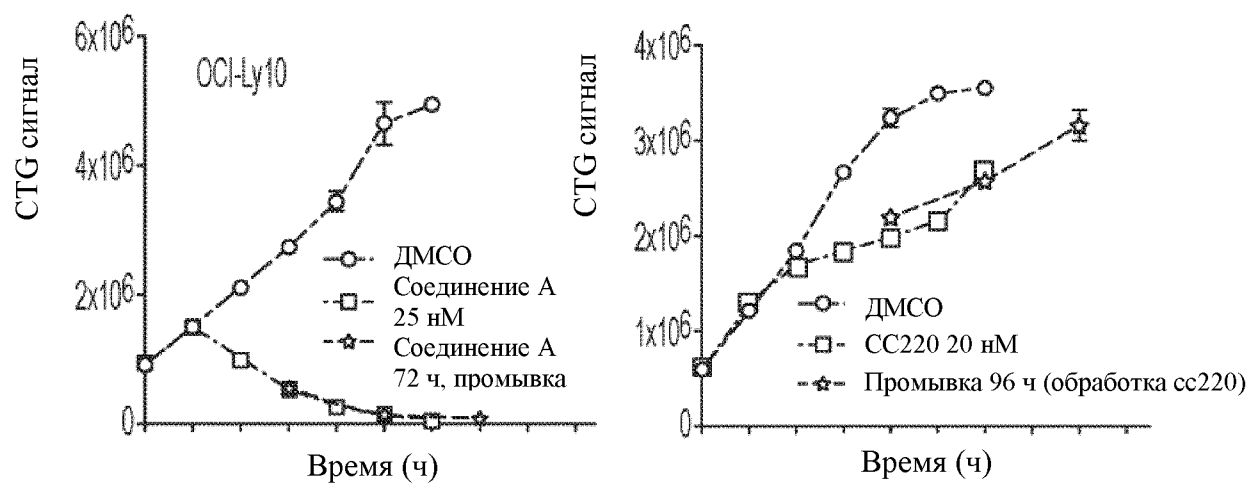
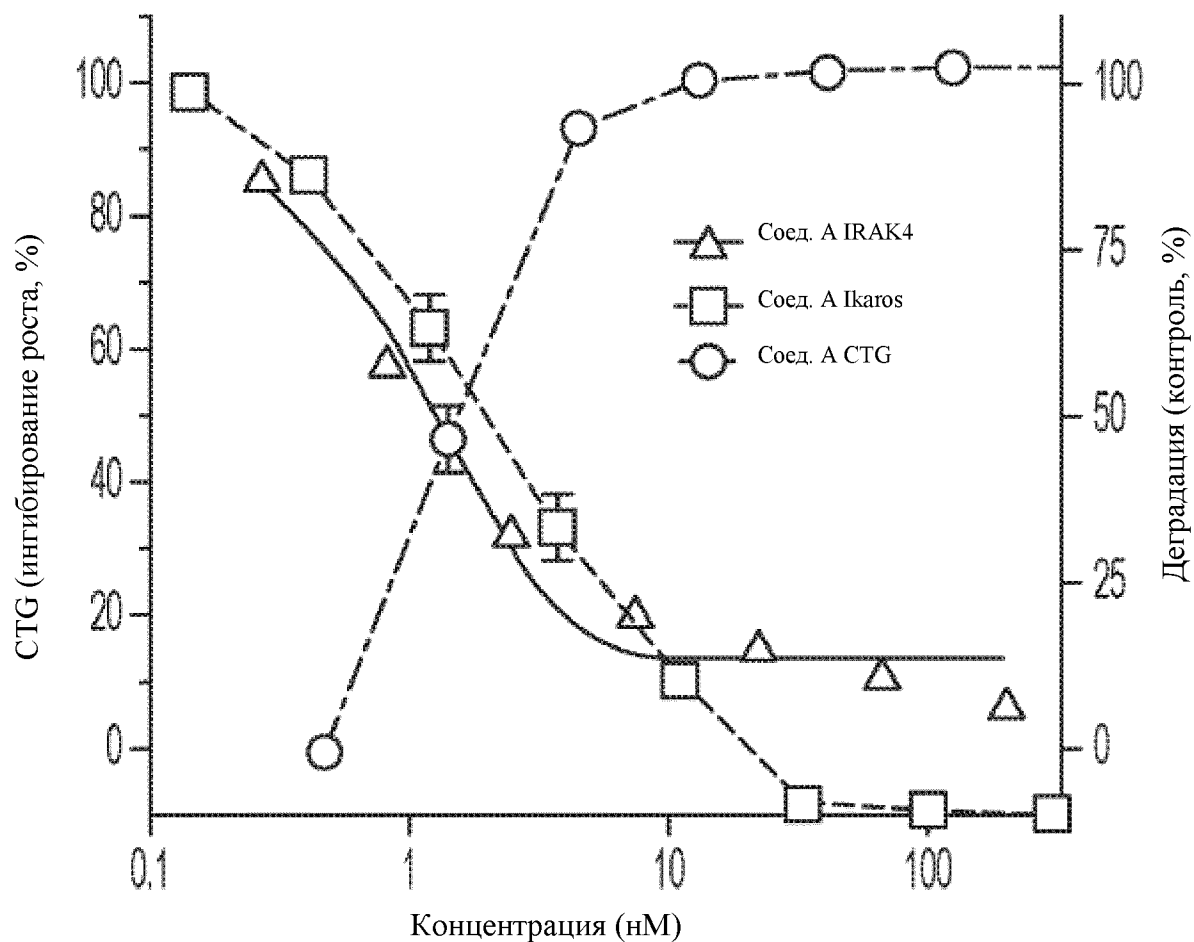
20

65. Применение по любому из пунктов 34-64, где пациент прошел по меньшей мере один курс предварительной терапии.

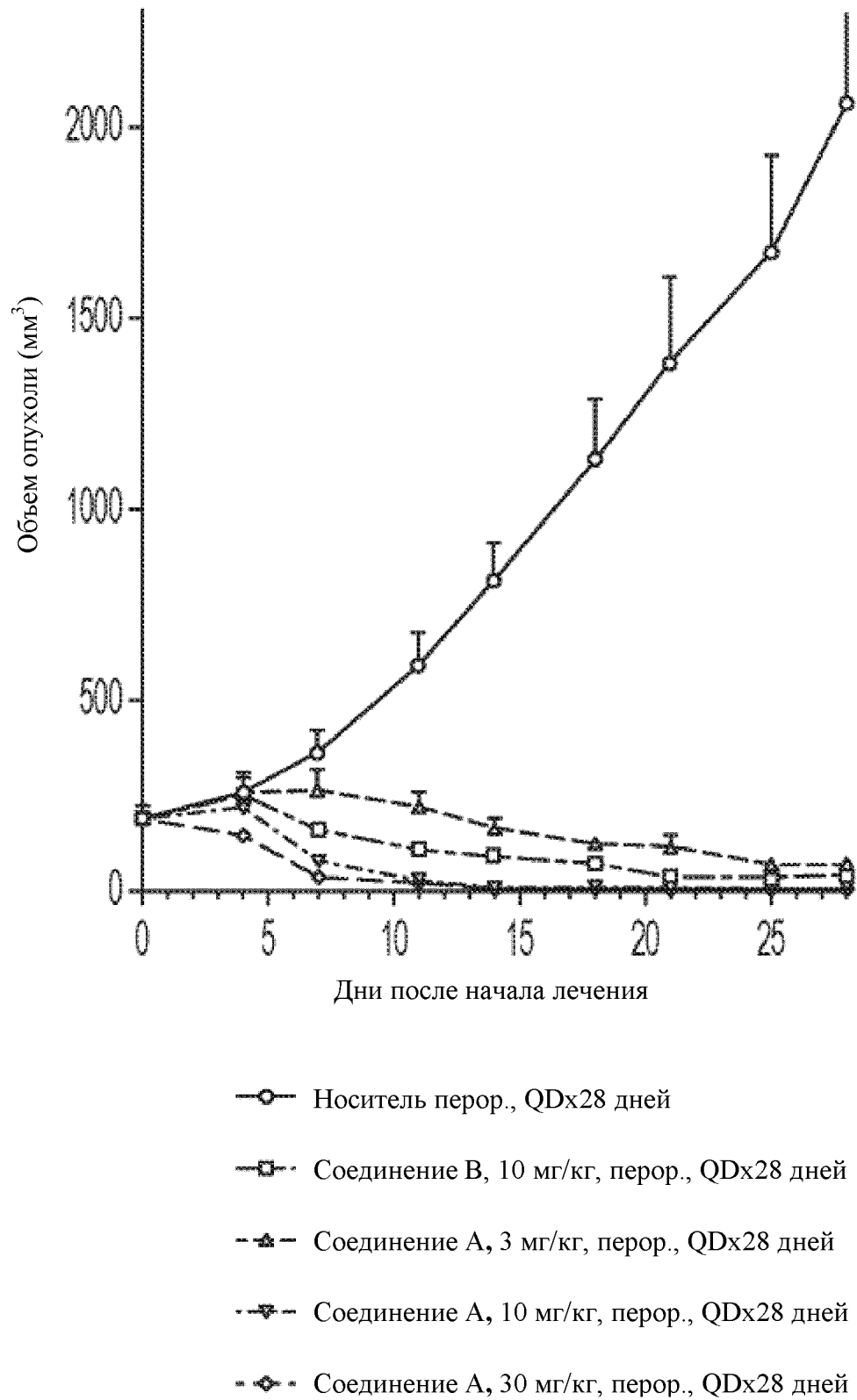
25

66. Применение по любому из пунктов 34-65, где пациентом является человек.

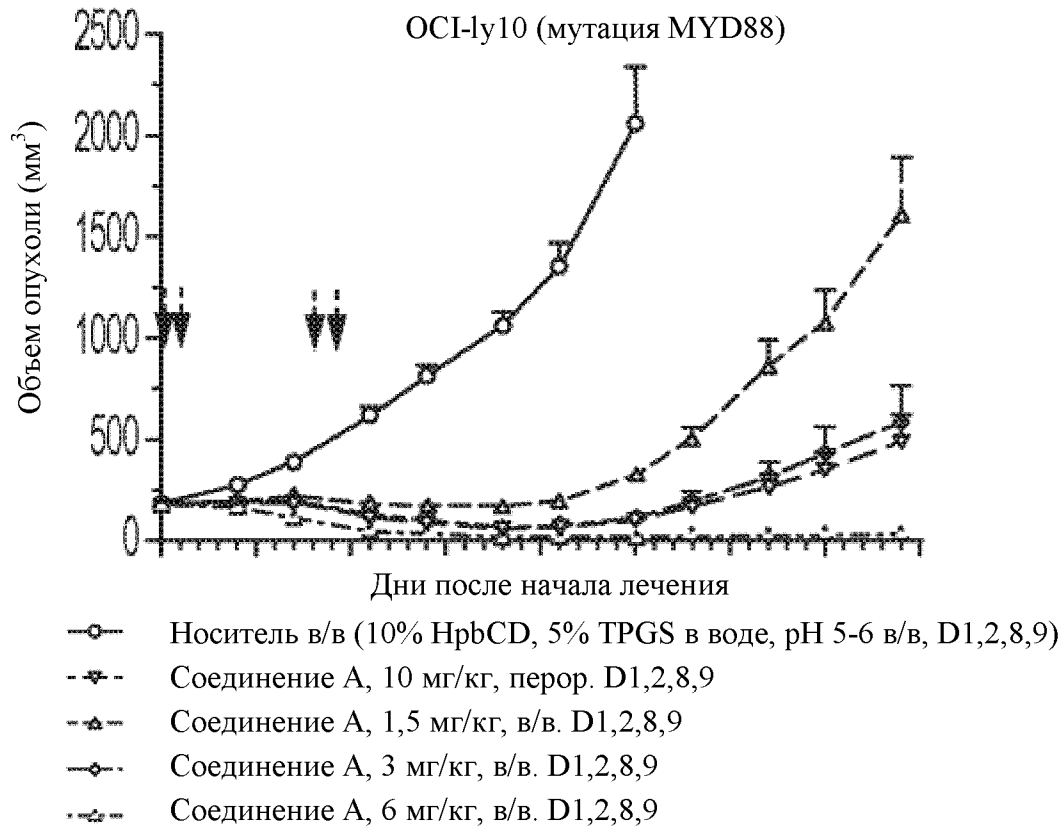
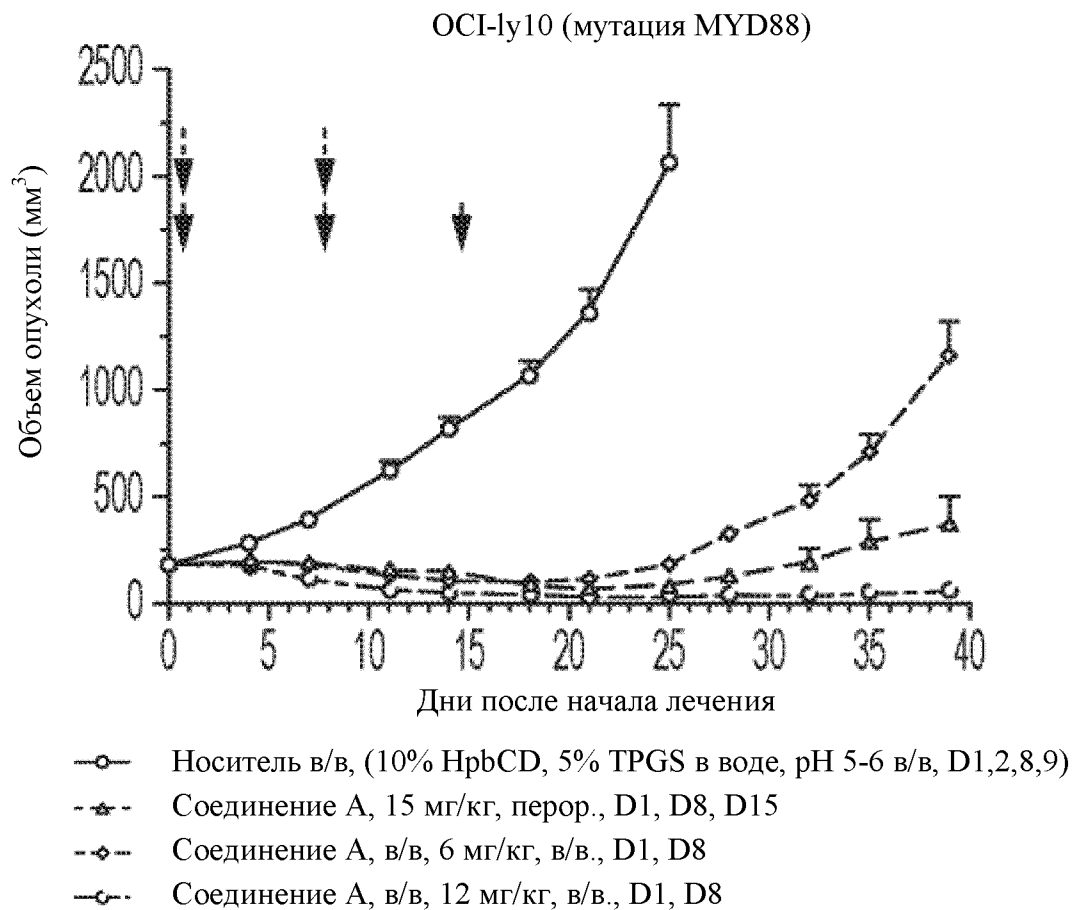
Жизнеспособность клеток в присутствии соединения А и
направленная деградация в OCI-Ly10



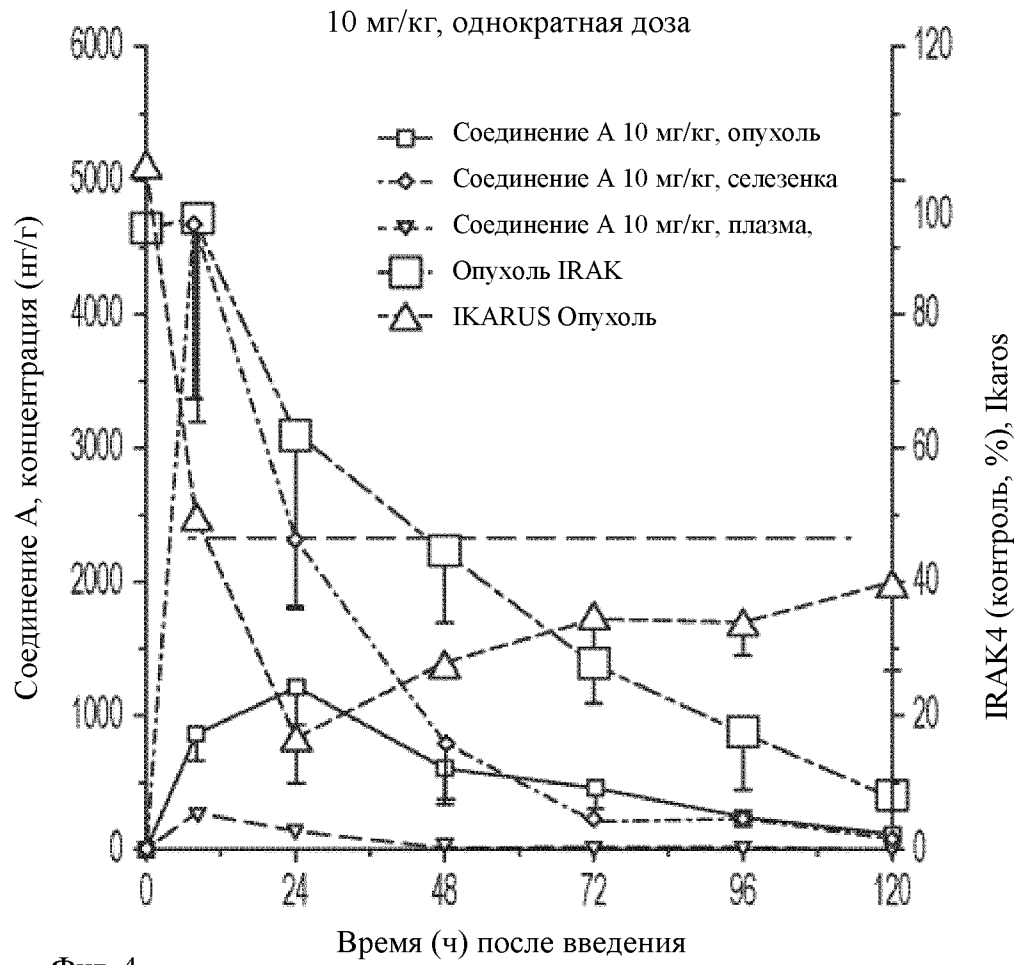
Фиг. 1



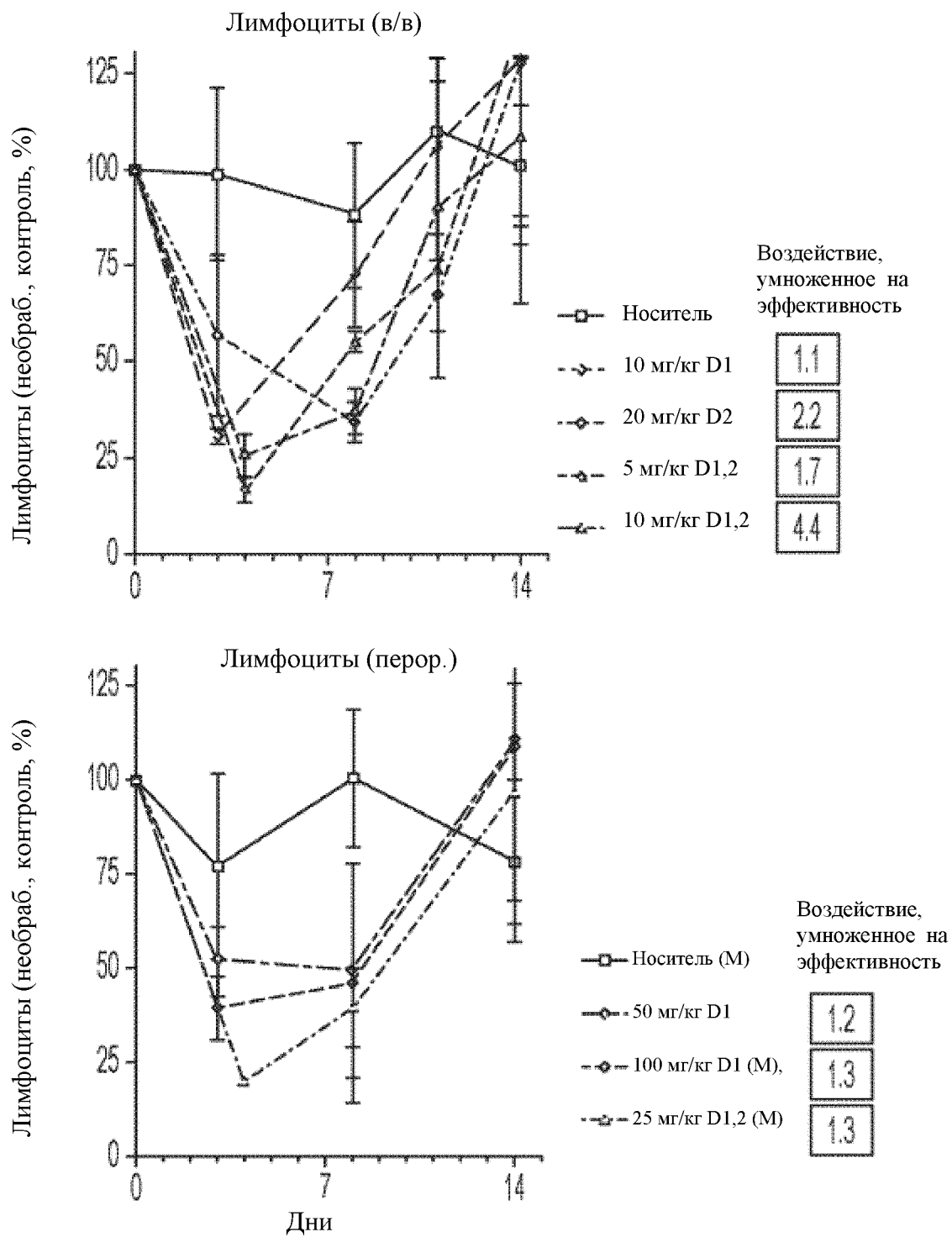
Фиг. 2



Фиг. 3

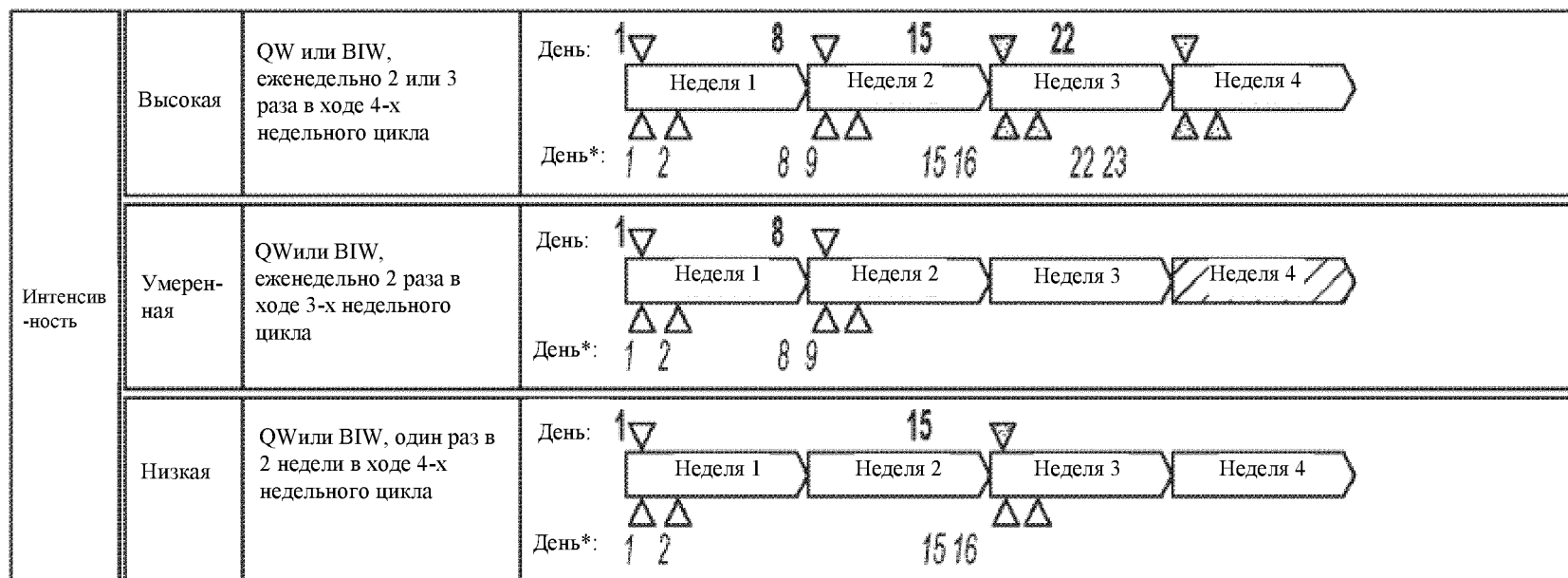


Фиг. 4



Фиг. 5

Фиг. 6



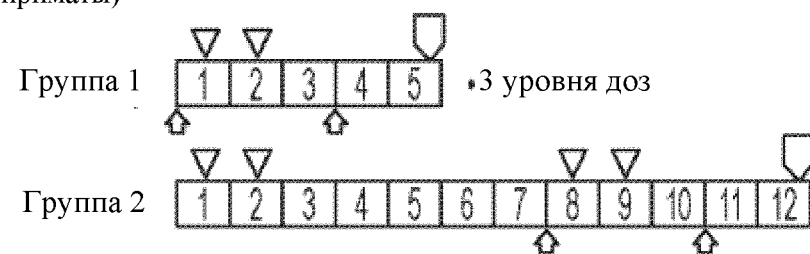
Фиг. 7

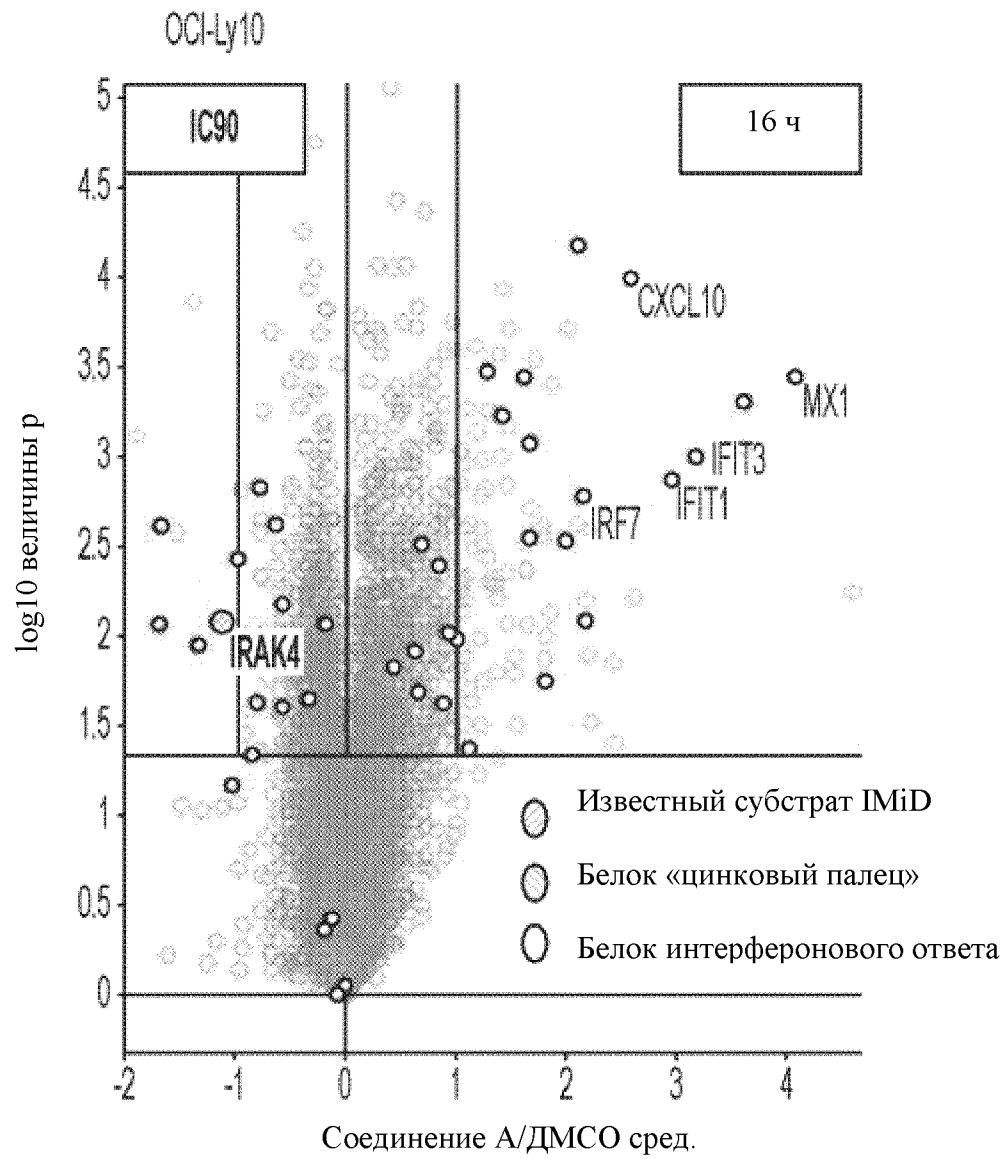
Основное исследование, Оценка безопасности, ФД ТК
(токсикокинетика) и кровь (крысы и нечеловекообр. приматы)



Вспомогательные группы: оценка ФД и ФК в тканях, соседних с участком дозировки (только нечеловекообр. приматы)

Нативные животные,
Через первые две недели
для обеспечения выбора
переносимых доз

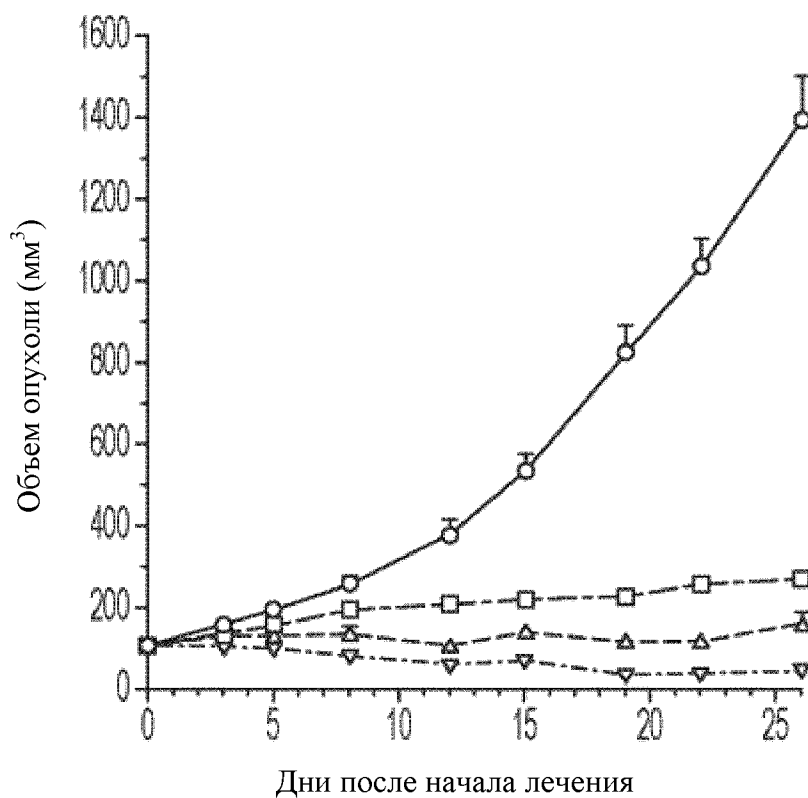




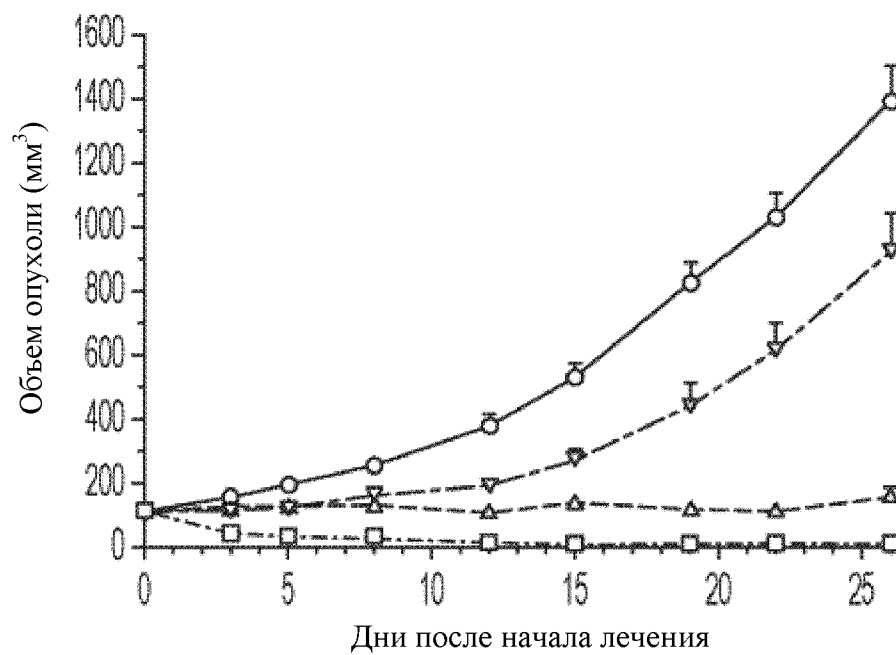
Фиг. 8



Фиг. 9

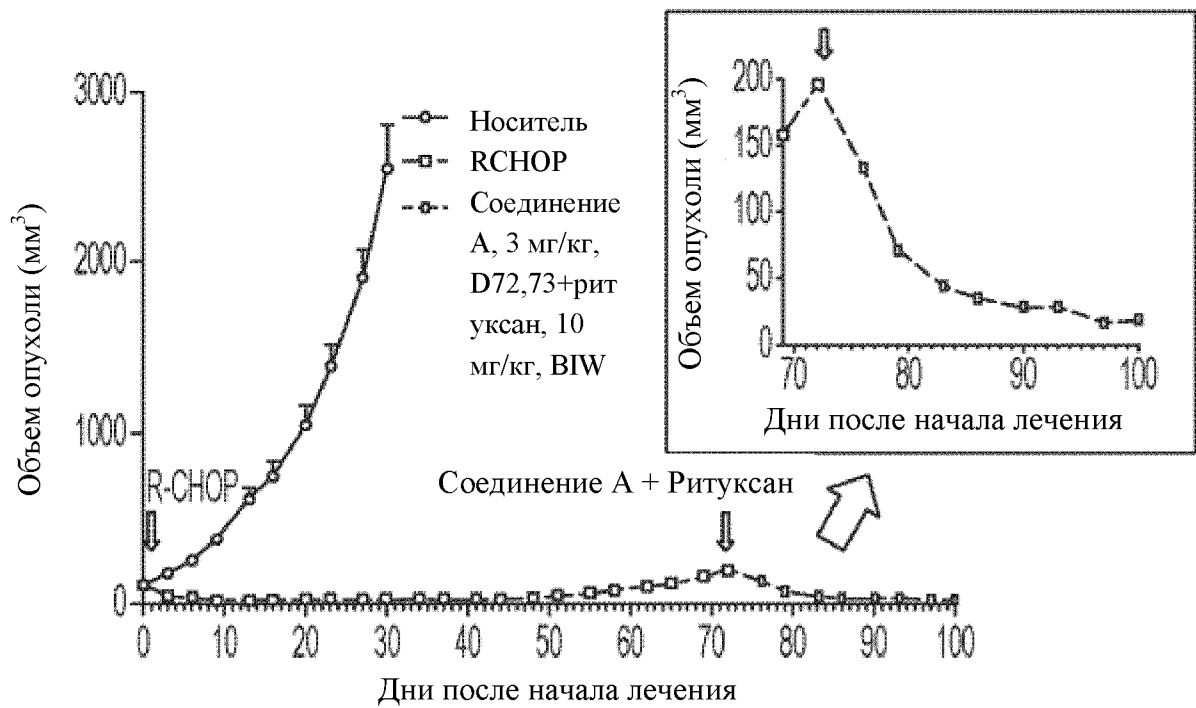
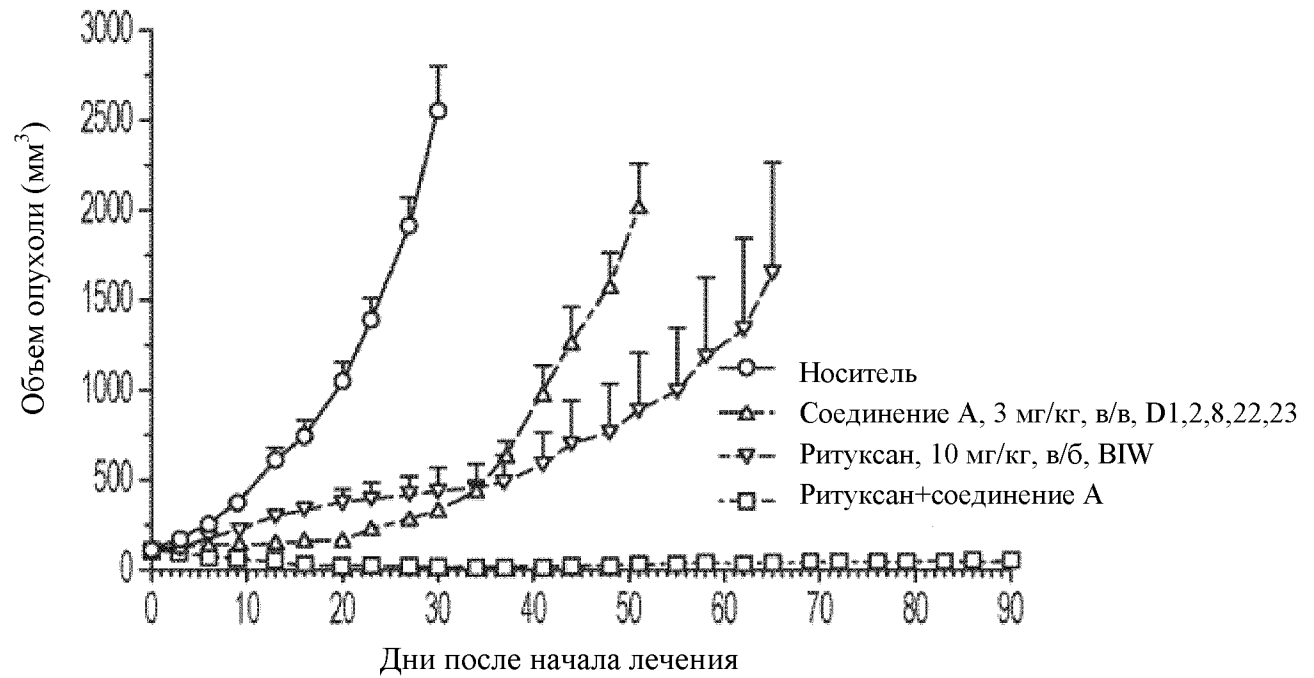


Фиг. 10



- Носитель перор. QDx21
- ▽— Венетоклакс, 50 мг/кг, перор., QDx21
- △— Соединение А, 3 мг/кг, в/в, D1,2,15,16
- Венетоклакс+соединение А

Фиг. 11



Фиг. 12