



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **129588** (13) **C2**  
(51) МПК (2025.01)  
A61P 35/00  
**A61K 31/015** (2006.01)  
**A61K 31/137** (2006.01)  
**A61K 31/138** (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ  
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ  
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ  
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<p>(21) Номер заявки: <b>а 2021 03001</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>06.12.2019</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: <b>12.06.2025</b></p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>62/776,338</b></p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>06.12.2018</b></p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заяву: <b>US</b></p> <p>(41) Публікація відомостей про заяву: <b>18.08.2021, Бюл.№ 33</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: <b>11.06.2025, Бюл.№ 24</b></p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: <b>PCT/US2019/064980, 06.12.2019</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Пател Нітіша (US), Біхані Теєру (US), Арлт Хейке (US), Тао Ніанцзюн (US)</b></p> <p>(73) Володілець (володільці): <b>РАДІУС ФАРМАСЕУТИКАЛС, ІНК., 22 Boston Wharf Road, 7th Floor, Boston, MA 02210, United States of America (US)</b></p> <p>(74) Представник: <b>Кістерський Кирило Арсенійович, реєстр. №207</b></p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: US 2018/153828 A1, 07.06.2018 TEERU BIHANI et al. Elacestrant (RAD1901), a Selective Estrogen Receptor Degradar (SERD), Has Antitumor Activity in Multiple ER + Breast Cancer Patient-derived Xenograft Models. CLINICAL CANCER RESEARCH, US. 05.05.2017. Vol. 23. No. 16. P. 4793 – 4804 FANNING et al. Estrogen receptor alpha somatic mutations Y537S and D538G confer breast cancer endocrine resistance by stabilizing the activating function-2 binding conformation. ELIFE. 02.02.2016. Vol. 5. P. 1 - 25 REINERT TOMÁS et al. Implications of ESR1 Mutations in Hormone Receptor-Positive Breast Cancer. CURRENT TREATMENT OPTIONS IN ONCOLOGY MAY 2005, SPRINGER US, BOSTON. 17.04.2018. Vol. 19. No. 5. P. 1 – 13</p>
--	--

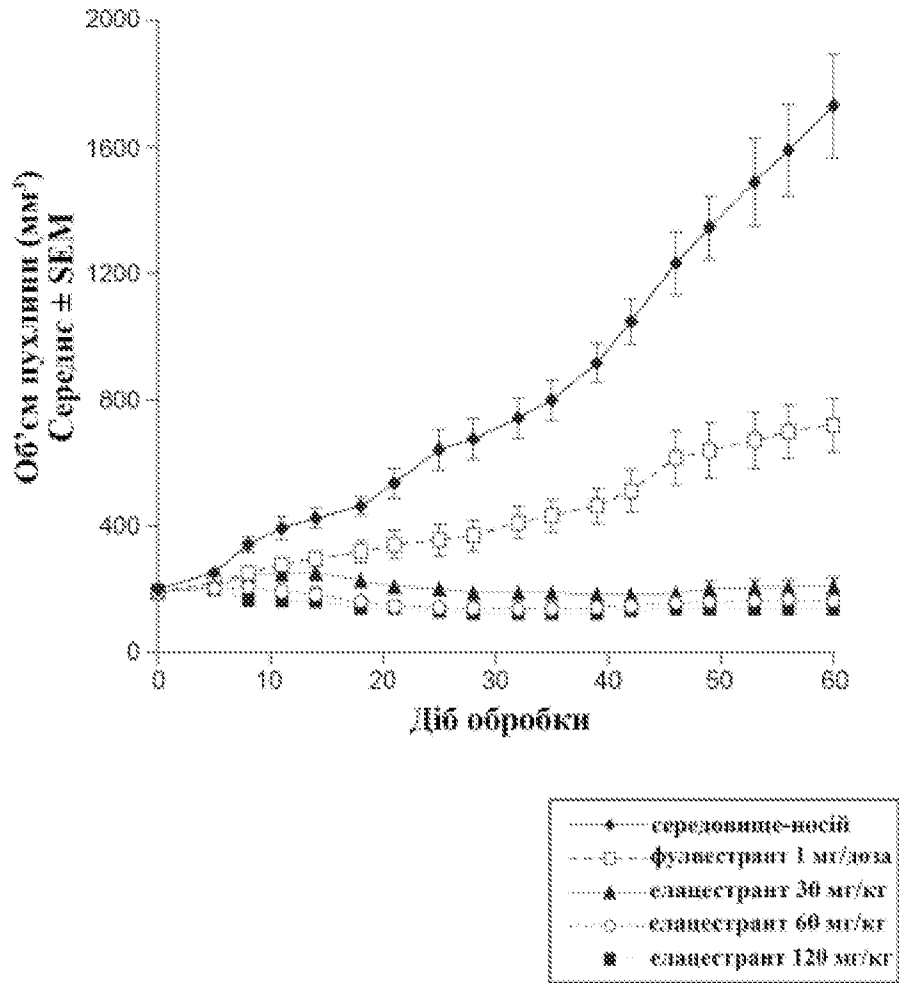
**(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ РАКУ НА МОДЕЛІ, ЯКА МАЄ МУТАЦІЇ ESR1**

**(57) Реферат:**

Винахід стосується способу лікування стійкого до лікарського засобу позитивного за рецептором естрогену альфа раку у суб'єкта, який має мутантний рецептор естрогену альфа, при цьому спосіб передбачає введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості елацестранту, при цьому мутантний рецептор естрогену альфа містить одну або декілька мутацій, вибраних із групи, яка складається з Y537S, D537G та S463P.

UA 129588 C2

PDX: ST2177  
 ESR1 mut: Y537S<sup>hom</sup>



Фіг. 2

Посилання на споріднені заявки

За даною заявкою заявляється пріоритет згідно з 35 U.S.C. § 119(e) відповідно до заявки на видачу патенту Сполучених Штатів Америки № 62/776338, що знаходиться на розгляді, поданої 6 грудня 2018 року. Повний зміст згаданої вище заявки в такий спосіб включений у даний документ за допомогою посилання в повному обсязі, включаючи графічні матеріали.

Галузь техніки, до якої належить даний винахід

Дане розкриття стосується способів забезпечення протипухлинної активності з використанням елацестранту на моделях раку, які мають мутації ESR1, стійких до стандарту лікувальних терапевтичних засобів. Дане розкриття також стосується способів лікування естроген-позитивних (ER+) ракових захворювань з наявністю мутацій ESR1, які можуть сприяти ендокринній стійкості, при цьому рак ефективно лікують з використанням елацестранту.

Попередній рівень техніки даного винаходу

Рак молочної залози ділиться на три підтипи відповідно до експресії трьох рецепторів: рецептора естрогену (ER), рецептора прогестерону (PR) і рецептора епідермального фактора росту людини-2 (Her2). Надекспресія ER виявляється у багатьох хворих із раком молочної залози. ER-позитивний (ER+) рак молочної залози становить дві третини всіх випадків раку молочної залози. Окрім раку молочної залози, естроген і ER пов'язані, наприклад, із раком яєчника, раком товстої кишки, раком передміхурової залози й раком ендометрія.

ER можуть активуватися естрогеном і переміщатися в ядро для зв'язування з ДНК, регулюючи у такий спосіб активність різних генів. Див., наприклад, Marino et al., "Estrogen Signaling Multiple Pathways to Impact Gene Transcription," *Curr. Genomics* 7(8): 497-508 (2006); i Heldring et al., "Estrogen Receptors: How Do They Signal and What Are Their Targets," *Physiol. Rev.* 87(3): 905-931 (2007).

Засоби, які інгібують продукування естрогену, як-от інгібітори ароматази (AI, наприклад, летрозол, анастрозол і екземестан), або засоби, які безпосередньо блокують активність ER, як-от селективні модулятори рецепторів естрогену (SERM, наприклад, тамоксифен, тореміфен, дролоксифен, ідоксифен, ралоксифен, лазофоксифен, арзоксифен, міпроксифен, левормелоксифен і EM-652 (SCH 57068)), а також селективні деструктори рецепторів естрогену (SERD, наприклад, фулвестрант, TAS-108 (SR16234), ZK191703, RU-5861068, ARNDC-0861068, ARNDC-08 810), GW5638/DPC974, SRN-927, ICI182780 і AZD9496), використовувались раніше або знаходяться в розробці для лікування ER-позитивних ракових захворювань молочної залози.

SERM і AI часто використовують як допоміжну системну терапію першої лінії у разі ER-позитивного раку молочної залози. AI пригнічують продукування естрогену в периферичних тканинах, блокуючи активність ароматази, яка перетворює андроген на естроген в організмі. Однак AI не може зупинити продукування естрогену яєчниками. Таким чином, AI переважно використовують для лікування жінок у постменопаузі. Крім того, оскільки AI ефективніші за SERM тамоксифен, із меншою кількістю серйозних побічних ефектів, AI також можна використовувати для лікування жінок у пременопаузі з пригніченою функцією яєчників. [Див., наприклад, Francis et al., "Adjuvant Ovarian Suppression in Premenopausal Breast Cancer," *the N. Engl. J. Med.*, 372:436-446 (2015)].

Стійкість до ендокринної терапії являє собою складний аспект ведення хворих із позитивним за рецепторами естрогену (ER+) раком молочної залози. Недавні дослідження показали, що набута стійкість може розвиватися після лікування інгібіторами ароматази завдяки появі мутацій у гені рецептора естрогену 1 (ESR1). Хоча початкове лікування цими засобами може бути успішним, у багатьох хворих в кінцевому підсумку виникає рецидив стійкого до лікарського засобу раку молочної залози. Мутації, які впливають на ER, з'явилися як один із можливих механізмів розвитку цієї стійкості. Див., наприклад, Robinson et al., "Activating ESR1 mutations in hormone-resistant metastatic breast cancer," *Nat Genet.* 45:1446-51 (2013). Мутації в ліганд-зв'язувальному домені (LBD) ER виявляються в 20-40 % зразків метастатичних ER-позитивних пухлин молочної залози від хворих, які одержували хоча б одну лінію ендокринного лікування. Jeselsohn, et al., "ESR1 mutations - a mechanism for acquired endocrine resistance in breast cancer," *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 12:573-83 (2015).

Отже, зберігається потреба у терапевтичних засобах тривалішої дії й ефективніших терапевтичних засобах, націлених на ER, для подолання деяких проблем, пов'язаних із сучасними ендокринними терапевтичними засобами, і для боротьби з розвитком стійкості.

Сутність винаходу

Згідно з одним аспектом дане розкриття стосується способу інгібування й руйнування позитивного за мутантним рецептором естрогену альфа раку у суб'єкта, який передбачає введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості елацестранту або його фармацевтично

прийнятних солі чи сольвату.

Варіанти здійснення цього аспекту даного винаходу можуть включати в себе одну або декілька з наступних необов'язкових ознак. Згідно з деякими варіантами здійснення позитивний за мутантним рецептором естрогену альфа рак містить одну або декілька мутацій, вибраних із групи, яка складається з D538G, Y537X<sub>1</sub>, L536X<sub>2</sub>, P535H, V534E, S463P, V392I, E380Q та їхніх комбінацій, при цьому X<sub>1</sub> являє собою S, N або C; і X<sub>2</sub> являє собою R або Q. Згідно з деякими варіантами здійснення мутація являє собою Y537S. Згідно з деякими варіантами здійснення мутація являє собою D538G. Згідно з деякими варіантами здійснення позитивний за мутантним рецептором естрогену альфа рак є стійким до лікарського засобу, вибраного з групи, яка складається з антиестрогенних засобів, інгібіторів ароматази та їхніх комбінацій. Згідно з деякими варіантами здійснення позитивний за мутантним рецептором естрогену альфа рак вибраний із групи, яка складається з раку молочної залози, раку матки, раку яєчника й раку гіпофіза. Згідно з деякими варіантами здійснення позитивний за мутантним рецептором естрогену альфа рак являє собою запущений або метастатичний рак молочної залози. Згідно з деякими варіантами здійснення позитивний за мутантним рецептором естрогену альфа рак являє собою рак молочної залози. Згідно з деякими варіантами здійснення суб'єкт являє собою жінку в постменопаузі. Згідно з деякими варіантами здійснення суб'єкт являє собою жінку в пременопаузі. Згідно з деякими варіантами здійснення суб'єкт являє собою жінку в постменопаузі, захворювання якої рецидивує або прогресує після попереднього лікування селективними модуляторами рецептора естрогену (SERM) й/або інгібіторами ароматази (AI). Згідно з деякими варіантами здійснення елацестрант вводять суб'єкту в дозі від приблизно 200 мг/добу до приблизно 500 мг/добу. Згідно з деякими варіантами здійснення елацестрант вводять суб'єкту в дозі приблизно 200 мг/добу, приблизно 300 мг/добу, приблизно 400 мг/добу або приблизно 500 мг/добу. Згідно з деякими варіантами здійснення елацестрант вводять суб'єкту в дозі, яка є максимальною стерпною дозою для суб'єкта. Згідно з деякими варіантами здійснення спосіб додатково передбачає ідентифікацію суб'єкта для лікування шляхом вимірювання підвищеної експресії одного або декількох генів, вибраних із ABL1, AKT1, AKT2, ALK, APC, AR, ARID1A, ASXL1, ATM, AURKA, BAP, BAP1, BCL2L11, BCR, BRAF, BRCA1, BRCA2, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CDH1, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CEPBA, CTNNB1, DDR2, DNMT3A, E2F3, EGFR, EML4, EPHB2, ERBB2, ERBB3, ESR1, EWSR1, FBXW7, FGF4, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, FRS2, HIF1A, HRAS, IDH1, IDH2, IGF1R, JAK2, KDM6A, KDR, KIF5B, KIT, KRAS, LRP1B, MAP2K1, MAP2K4, MCL1, MDM2, MDM4, MET, MGMT, MLL, MPL, MSH6, MTOR, MYC, NF1, NF2, NKX2-1, NOTCH1, NPM, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PIK3R1, PML, PTEN, PTPRD, RARA, RB1, RET, RICTOR, ROS1, RPTOR, RUNX1, SMAD4, SMARCA4, SOX2, STK11, TET2, TP53, TSC1, TSC2 і VHL. Згідно з деякими варіантами здійснення один або декілька генів вибрані з AKT1, AKT2, BRAF, CDK4, CDK6, PIK3CA, PIK3R1 і MTOR. Згідно з деякими варіантами здійснення відношення концентрації елацестранту або його солі чи сольвату в пухлині до концентрації елацестранту або його солі чи сольвату в плазмі (T/P) після введення становить щонайменше приблизно 15.

Згідно з іншим аспектом дане розкриття стосується способу лікування стійкого до лікарського засобу позитивного за рецептором естрогену альфа раку у суб'єкта, який має мутантний рецептор естрогену альфа, при цьому спосіб передбачає введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості елацестранту або його фармацевтично прийнятних солі чи сольвату, при цьому мутантний рецептор естрогену альфа містить одну або декілька мутацій, вибраних із групи, яка складається з D538G, Y537X<sub>1</sub>, L536X<sub>2</sub>, P535H, V534E, S463P, V392I, E380Q та їхніх комбінацій, при цьому X<sub>1</sub> являє собою S, N або C; і X<sub>2</sub> являє собою R або Q.

Варіанти здійснення цього аспекту даного винаходу можуть включати в себе одну або декілька з наступних необов'язкових ознак. Згідно з деякими варіантами здійснення рак є стійким до лікарського засобу, вибраного з групи, яка складається з антиестрогенних засобів, інгібіторів ароматази та їхніх комбінацій. Згідно з деякими варіантами здійснення антиестрогенні засоби вибрані з групи, яка складається з тамоксифену, тореміфену й фулвестранту, а інгібітори ароматази вибрані з групи, яка складається з ексеместану, летрозолу й анастрозолу. Згідно з деякими варіантами здійснення стійкий до лікарського засобу позитивний за рецептором естрогену альфа рак вибраний із групи, яка складається з раку молочної залози, раку матки, раку яєчника й раку гіпофіза. Згідно з деякими варіантами здійснення рак являє собою запущений або метастатичний рак молочної залози. Згідно з деякими варіантами здійснення рак являє собою рак молочної залози. Згідно з деякими варіантами здійснення суб'єкт являє собою жінку в постменопаузі. Згідно з деякими варіантами здійснення суб'єкт являє собою жінку в пременопаузі. Згідно з деякими варіантами здійснення суб'єкт являє собою жінку в постменопаузі, захворювання якої рецидивує або прогресує після попереднього

лікування за допомогою SERM і/або AI. Згідно з деякими варіантами здійснення у суб'єкта експресується щонайменше один мутантний рецептор естрогену альфа, вибраний із групи, яка складається з D538G, Y537S, Y537N, Y537C, E380Q, S463P, L536R, L536Q, P535H, V392I і V534E. Згідно з деякими варіантами здійснення мутація включає в себе Y537S. Згідно з деякими варіантами здійснення мутація включає в себе D538G. Згідно з деякими варіантами здійснення спосіб додатково передбачає ідентифікацію суб'єкта для лікування шляхом вимірювання підвищеної експресії одного або декількох генів, вибраних із ABL1, AKT1, AKT2, ALK, APC, AR, ARID1A, ASXL1, ATM, AURKA, BAP, BAP1, BCL2L11, BCR, BRAF, BRCA1, BRCA2, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CDH1, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CEVPA, CTNNA1, DDR2, DNMT3A, E2F3, EGFR, EML4, ERBB2, ERBB3, ESR1, EWSR1, FBXW7, FGF4, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, FRS2, HIF1A, HRAS, IDH1, IDH2, IGF1R, JAK2, KDM6A, KDR, KIF5B, KIT, KRAS, LRP1B, MAP2K1, MAP2K4, MCL1, MDM2, MDM4, MET, MGMT, MLL, MPL, MSH6, MTOR, MYC, NF1, NF2, NKX2-1, NOTCH1, NPM, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PIK3R1, PML, PTEN, PTPRD, RARA, RB1, RET, RICTOR, ROS1, RPTOR, RUNX1, SMAD4, SMARCA4, SOX2, STK11, TET2, TP53, TSC1, TSC2 і VHL. Згідно з деякими варіантами здійснення один або декілька генів вибрані з AKT1, AKT2, BRAF, CDK4, CDK6, PIK3CA, PIK3R1 і MTOR. Згідно з деякими варіантами здійснення елацестрант вводять суб'єкту в дозі від приблизно 200 до приблизно 500 мг/добу. Згідно з деякими варіантами здійснення елацестрант вводять суб'єкту в дозі приблизно 200 мг, приблизно 300 мг, приблизно 400 мг або приблизно 500 мг. Згідно з деякими варіантами здійснення елацестрант вводять суб'єкту в дозі приблизно 300 мг/добу. Згідно з деякими варіантами здійснення відношення концентрації елацестранту або його солі чи сольову в пухлині до концентрації елацестранту або його солі чи сольову в плазмі (T/P) після введення становить щонайменше приблизно 15.

Якщо не зазначено інше, всі технічні й наукові терміни, використовувані в даному документі, мають значення, зазвичай відоме середньому фахівцеві в галузі, до якої належить даний винахід. У даному документі описуються способи й матеріали для застосування в даному винаході; також можуть бути використані інші придатні способи й матеріали, відомі в рівні техніки. Матеріали, способи й приклади є виключно ілюстративними й не призначені для обмеження. Всі публікації, заявки на видачу патентів, патенти, послідовності, об'єкти баз даних та інші довідкові матеріали, згадані в даному документі, включені за допомогою посилання в повному своєму обсязі. У разі конфлікту регулюючим буде даний опис, зокрема визначення.

Інші ознаки й переваги даного винаходу стануть очевидними з детального розкриття й графічних матеріалів, а також із формули винаходу.

Короткий опис графічних матеріалів

Наступні графічні матеріали представлені як приклад і не призначені для обмеження обсягу заявленого винаходу.

Фіг. 1. На репрезентативних зображеннях, у верхньому ряду, показані пухлинні клітини, оброблені контролем у вигляді середовища-носія для ліній мутантних ракових клітин клону 1 Y537S, клону 2 Y537S, клону 1 D538G, клону 2 D538G і клону 1 S463P. На зображеннях, представлених у нижньому ряду, показані пухлинні клітини клону 1 Y537S, клону 2 Y537S, клону 1 D538G, клону 2 D538G і клону 1 S463P, оброблені елацестрантом при 100 нМ.

Фіг. 2. Середнє +/- SEM об'ємів пухлини з плином часу на мишачих моделях ксенотрансплантата, оброблених контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30, 60 і 120 мг/кг) і фулвестрантом (1 мг/доза).

Фіг. 3А. Кратність зміни відносно контролю рецептора прогестерону (PgR) для моделей пухлинних клітин, які мають мутації дикого типу, S463P, D538G і Y537S, оброблених контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (10, 100 і 1000 нМ), E2 (10 пМ) і фулвестрантом (10, 100 1000 нМ).

Фіг. 3В. Кратність зміни відносно контролю росту, регульованого естрогеном (GREB1), у моделях пухлинних клітин, які мають мутації дикого типу, S463P, D538G і Y537S, оброблених контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (10, 100 і 1000 нМ), E2 (10 пМ) і фулвестрантом (10, 100 1000 нМ).

Фіг. 3С. Кратність зміни відносно контролю фактора "трилисника" 1 (TFF1) у моделях пухлинних клітин, які мають мутації дикого типу, S463P, D538G і Y537S, оброблених контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (10, 100 і 1000 нМ), E2 (10 пМ) і фулвестрантом (10, 100 1000 нМ).

Фіг. 4А. Середнє +/- SEM об'ємів пухлини з плином часу у безтимусних голих мишей з імплантованим ксенотрансплантатом PDX ST2535-HI (попередньо оброблених тамоксифеном, інгібітором ароматази й фулвестрантом) з мутацією ESR1:D538G, оброблених контролем у вигляді середовища-носія й елацестрантом (30 і 60 мг/кг).

Фіг. 4B. Середнє +/- SEM об'ємів пухлини з плином часу у безтимусних голих мишей з імплантованим ксенотрансплантатом PDX CTG-1211-HI (попередньо оброблених тамоксифеном, інгібітором ароматази й фулвестрантом) з мутацією ESR1:D538G, оброблених контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза).

Фіг. 4C. Середнє +/- SEM об'ємів пухлини з плином часу у безтимусних голих мишей з імплантованим ксенотрансплантатом PDX WHIM43-HI (попередньо оброблених тамоксифеном, інгібітором ароматази й фулвестрантом) з мутацією ESR1:D538G, оброблених контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза).

Фіг. 5A. Кратність зміни відносно контролю у вигляді середовища-носія вмісту мРНК рецептора прогестерону (PgR) на моделі ксенотрансплантата PDX ST2535-HI (з попередньою обробкою тамоксифеном, інгібітором ароматази й фулвестрантом) з мутацією ESR1:D538G, обробленій контролем у вигляді середовища-носія й елацестрантом (30 і 60 мг/кг).

Фіг. 5B. Блотограма, на якій проілюстрована експресія PgR на моделі ксенотрансплантата PDX ST2535-HI з мутацією ESR1:D538G, обробленій контролем у вигляді середовища-носія й елацестрантом (30 і 60 мг/кг).

Фіг. 5C. Кратність зміни відносно контролю у вигляді середовища-носія вмісту мРНК рецептора прогестерону (PgR) на моделі ксенотрансплантата PDX CTG-1211-HI (з попередньою обробкою тамоксифеном, інгібітором ароматази й фулвестрантом) з мутацією ESR1:D538G, обробленій контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза).

Фіг. 5D. Блотограма, на якій проілюстрована експресія PgR на моделі ксенотрансплантата PDX CTG-1211-HI з мутацією ESR1:D538G, обробленій контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом.

Фіг. 5E. Кратність зміни відносно контролю у вигляді середовища-носія вмісту мРНК рецептора прогестерону (PgR) на моделі ксенотрансплантата PDX WHIM43-HI (з попередньою обробкою тамоксифеном, інгібітором ароматази й фулвестрантом) з мутацією ESR1:D538G, обробленій контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза).

Фіг. 5F. Блотограма, на якій проілюстрована експресія PgR на моделі ксенотрансплантата PDX WHIM43-HI з мутацією ESR1:D538G, обробленій контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом.

Фіг. 6A. Середнє +/- SEM об'ємів пухлини з плином часу на моделі PDX ST941-HI, яка містить мутацію ESR1:Y537S, обробленій контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза), дозою 1 serd1 і дозою 2 serd1.

Фіг. 6B. Середнє +/- SEM об'ємів пухлини з плином часу на моделі PDX ST941-HI, яка містить мутацію ESR1:Y537S, обробленій контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза), дозою 1 serd2 і дозою 2 serd2.

Фіг. 7A. Кратність зміни відносно контролю у вигляді середовища-носія вмісту мРНК рецептора прогестерону (PgR) на моделі PDX ST941-HI, яка містить мутацію ESR1:Y537S, обробленій контролем у вигляді середовища-носія, фулвестрантом (3 мг/доза), елацестрантом (30 мг/кг), дозою 1 serd1, дозою 2 serd1, дозою 1 serd2 і дозою 2 serd2.

Фіг. 7B. Блотограма, на якій проілюстрована модель PDX ST941-HI, яка містить мутацію ESR1:Y537S, що демонструє експресію PgR, оброблена контролем у вигляді середовища-носія, фулвестрантом (3 мг/кг), елацестрантом (30 мг/кг), дозою 1 serd1 і дозою 2 serd1.

Фіг. 7C. Блотограма, на якій проілюстрована модель PDX ST941-HI, яка містить мутацію ESR1:Y537S, що демонструє експресію PgR, оброблена контролем у вигляді середовища-носія, фулвестрантом (3 мг/кг), елацестрантом (30 мг/кг), дозою 1 serd2 і дозою 2 serd2.

Фіг. 8A. *In vitro* життєздатність клітин (%контролю), представлена відносно Log[концентрація (мкМ)] для лінії клітин PDX ST941-HI.

Фіг. 8B. Кратність зміни відносно контролю у вигляді середовища-носія вмісту мРНК рецептора прогестерону (PgR), нанесена на графік в залежності від концентрації елацестранту (0, 10, 100 і 1000 нМ) і фулвестранту (0, 10, 100 і 1000 нМ), використовуваних у разі обробки *in vitro* лінії клітин ST941-HI, одержаної з PDX.

Фіг. 9A. Середнє +/- SEM об'ємів пухлини у мишей з імплантованими PDX ST941-HI, які містять мутацію ESR1:Y537S, нанесене на графік в залежності від часу й обробки їх контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (10, 30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза).

Фіг. 9B. Кратність зміни відносно контролю експресії мРНК рецептора прогестерону (PgR) на моделі PDX ST941-HI, нанесена на графік в залежності від обробки її контролем у вигляді середовища-носія, фулвестрантом (3 мг/доза) й елацестрантом (10, 30 і 60 мг/кг).

Фіг. 10А. Середнє +/- SEM об'ємів пухлини з плином часу у мишей з імплантованим ксенотрансплантатом PDX WHIM20 з мутацією ESR1:Y537Shom, оброблених контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза).

5 Фіг. 10В. Кратність зміни відносно контролю у вигляді середовища-носія рецептора прогестерону (PgR) на моделі ксенотрансплантата PDX WHIM20 з мутацією ESR1:Y537Shom, обробленій контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза).

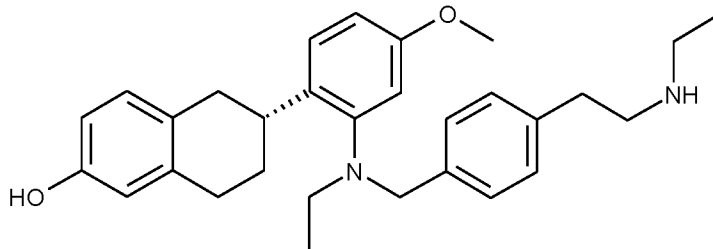
10 Фіг. 10С. Кратність зміни відносно контролю фактора "трилисника" 1 (TFF1) на моделі ксенотрансплантата PDX WHIM20 з мутацією ESR1:Y537Shom, обробленій контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза).

Фіг. 10D. Кратність зміни відносно контролю росту, регульованого естрогеном (GREB1), на моделі ксенотрансплантата PDX WHIM20 з мутацією ESR1:Y537Shom, обробленій контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза).

15 Фіг. 10Е. Блотограма, на якій проілюстрована модель ксенотрансплантата PDX WHIM20 з мутацією ESR1:Y537Shom, що демонструє експресію PgR, оброблена контролем у вигляді середовища-носія, фулвестрантом (3 мг/доза) й елацестрантом (30 і 60 мг/кг).

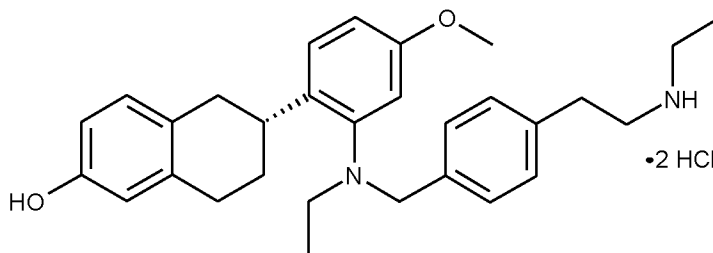
Докладне розкриття даного винаходу

20 Використовуваний у даному документі елацестрант або "RAD1901" являє собою перорально біодоступний селективний деструктор рецептора естрогену (SERD) і характеризується наступною хімічною структурою



Елацестрант

25 Елацестрант, включаючи його солі, сольвати (наприклад, гідрат) і проліки. Доклінічні дані показали, що елацестрант є ефективним в інгібуванні росту пухлини на моделях ER+ раку молочної залози з ESR1 як дикого типу, так і мутантними. Згідно з деякими варіантами здійснення, описаними в даному документі, елацестрант вводять у вигляді біс-гідрохлоридної ( $\cdot 2\text{HCl}$ ) солі, що характеризується наступною хімічною структурою



30 Елацестрант дигідрохлорид

35 Для жінки в постменопаузі розгляданий стандарт лікування ER+ ракових захворювань, як-от раку молочної залози, передбачає інгібування шляху ER за допомогою 1) інгібування синтезу естрогену (інгібіторів ароматази (AI)); 2) безпосереднього зв'язування з ER і модулювання його активності з використанням SERM (наприклад, тамоксифену); і/або 3) безпосереднього зв'язування з ER і забезпечення розкладання рецептора з використанням SERD (наприклад, фулвестранту). У жінки в пременопаузі розгляданий стандарт лікування буде додатково передбачати пригнічення функції яєчників за допомогою оваріоектомії або агоніста гормону, який забезпечує вивільнення лютеїнізуючого гормону (LHRH). Незважаючи на те, що хворі 40 зазвичай добре реагують на клінічно схвалені методи лікування, мутації ESR1 можуть часто виникати (наприклад, 20-40 %) у разі метастатичного раку молочної залози й можуть сприяти

розвитку ендокринної стійкості. Хоча реакція мутацій ESR1 на AI та/або SERD повністю не вивчена, нещодавні дані аналізу ctDNA у випробуванні PALOMA-3 палбоциклібу й фулвестранту порівняно з плацебо й фулвестрантом продемонстрували тенденцію до відбору мутації ESR1 Y537S після лікування фулвестрантом. Ці дані показують тенденцію ESR1 до мутування разом з  
 5 необхідністю внутрішньом'язової дози фулвестранту й підкреслюють необхідність у нових і/або покращених перорально біодоступних ендокринних методах лікування, які володіють ефективністю проти ESR1 та всіх мутацій ESR1.

Неочікувана ефективність елацестранту щодо цільових пухлин, що погано відповідають на лікування фулвестрантом, і в пухлинах, які експресують мутантний ER $\alpha$ , може бути пов'язана з  
 10 унікальними взаємодіями між елацестрантом і ER $\alpha$ . Структурні моделі ER $\alpha$ , зв'язаного з елацестрантом та іншими ER $\alpha$ -зв'язувальними сполуками, аналізували для одержання інформації про специфічні зв'язувальні взаємодії. Комп'ютерне моделювання показало, що на взаємодії елацестрант-ER $\alpha$  навряд чи можуть впливати мутанти LBD ER $\alpha$ , наприклад, мутант Y537X, де X являв собою S, N або C; D538G і S463P, на які припадає приблизно 81,7 % мутацій  
 15 LBD, виявлених у недавньому дослідженні зразків метастатичних ER-позитивних пухлин молочної залози від хворих, які одержували щонайменше одну лінію ендокринного лікування. Це привело до ідентифікації специфічних залишків у С-кінцевих ліганд-зв'язувальних доменах ER $\alpha$ , які мають важливе значення для зв'язування, інформації, яка може бути використана для розробки сполук, що зв'язують й антагонізують не тільки ER $\alpha$  дикого типу, але також певні мутації та їхні варіанти.  
 20

Грунтуючись на цих результатах, у даному документі представлені способи інгібування росту або забезпечення регресії ER $\alpha$ -позитивних раку або пухлини у суб'єкта, який потребує цього, шляхом введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості елацестранту або його сольвату (наприклад, гідрату) чи солі. Згідно з деякими варіантами здійснення введення елацестранту або його солі чи сольвату (наприклад, гідрату) характеризується додатковими терапевтичними перевагами на додаток до інгібування росту пухлини, які включають в себе, наприклад, інгібування проліферації ракових клітин або інгібування активності ER $\alpha$  (наприклад, шляхом інгібування зв'язування естрадіолу або шляхом розкладання ER $\alpha$ ). Згідно з деякими варіантами здійснення спосіб не чинить негативних ефектів на м'язи, кістки, молочну залозу й матку.  
 25

Згідно з деякими варіантами здійснення способів інгібування росту пухлини або регресії, представлених у даному документі, способи додатково передбачають стадію визначення того, чи має хворий пухлину, що експресує ER $\alpha$ , до введення елацестранту або його сольвату (наприклад, гідрату) або солі. Згідно з деякими варіантами здійснення способів інгібування росту пухлини або регресії, представлених у даному документі, способи додатково передбачають стадію визначення того, чи має хворий пухлину, що експресує мутантний ER $\alpha$ , до введення елацестранту або його сольвату (наприклад, гідрату) чи солі. Згідно з деякими варіантами здійснення способів інгібування росту пухлини або регресії, представлених у даному документі, способи додатково передбачають стадію визначення того, чи має хворий пухлину, що експресує ER $\alpha$ , яка відповідає або не відповідає на лікування AI, SERD (наприклад, фулвестрантом) і/або SERM (наприклад, тамоксифеном), до введення елацестранту або його сольвату (наприклад, гідрату) чи солі. Такі визначення можуть бути здійснені з використанням будь-якого способу виявлення експресії, відомого в рівні техніки, і можуть бути виконані *in vitro* з використанням зразка пухлини або тканини, виділеного у суб'єкта.  
 30

У способах, описаних у даному документі, елацестрант демонструє інгібування росту на декількох моделях PDX, які мають мутації ESR1:D538G і ESR1:Y537S, включаючи моделі, стійкі до палбоциклібу, стійкі до фулвестранту та які раніше обробляли інгібіторами ароматази/тамоксифеном/фулвестрантом. Елацестрант, як також було продемонстровано, забезпечує як розкладання ER, так і інгібування передачі сигналу ER на моделях PDX, що мають мутацію ESR1:D538G. Елацестрант є ефективним як *in vitro*, так і *in vivo* на моделі ST941-HI, яка має мутацію Y537. Крім того, два SERD, які мають бокові ланцюги акрилової кислоти, демонстрували часткове інгібування росту *in vivo* на моделі PDX ST941-HI. Фулвестрант, тоді як є ефективним *in vitro*, демонстрував відсутність активності *in vivo* на моделі PDX ST941-HI. У той час як і елацестрант, і фулвестрант демонструють часткову ефективність на моделі WHIM20, яка містить мутацію ESR1:Y537S, незважаючи на те, що обидва засоби забезпечують розкладання ER й інгібують передачу сигналу ER, роль елацестранту та його комбінації з інгібіторами інших онкогенних факторів росту пухлини забезпечує успіхи в лікуванні пухлин з підвищеною ефективністю.  
 35

Роль мутацій ESR1 в ендокринній стійкості та їх вплив на ефективність методів ендокринного лікування являє собою складний взаємозв'язок. Дійсно, нещодавні дані аналізу  
 40



ctDNA у випробуванні PALOMA3 палбоциклібу й фулвестранту порівняно з плацебо й фулвестрантом продемонстрували тенденцію до відбору мутації ESR1:Y537S після лікування фулвестрантом. Це дослідження показує, що можуть спостерігатися певні випадки мутацій ESR1, за яких фулвестрант може мати обмежену активність. Отже, наведені в даному документі дослідження, які показують ефективне застосування елацестранту як лікування ракових захворювань, яке характеризується ефективністю проти всіх мутацій ESR1, є багатообіцяючим відкриттям.

Визначення

Варто застосовувати наступні використовувані в даному документі визначення, якщо не зазначено інше.

Використовувані в даному документі терміни "RAD1901" і "елацестрант" стосуються однієї й тієї самої хімічної сполуки й використовуються взаємозамінно.

Використовуваний в даному документі термін "інгібування росту" ER $\alpha$ -позитивної пухлини може стосуватися зменшення швидкості росту пухлини або повного припинення росту пухлини.

Використовуваний в даному документі термін "регресія пухлини" або "регресія" ER $\alpha$ -позитивної пухлини може стосуватися зниження максимального розміру пухлини. Згідно з деякими варіантами здійснення введення комбінації, описаної в даному документі, або її сольватів (наприклад, гідрату) чи солей може приводити до зменшення розміру пухлини порівняно з початковим рівнем (тобто з розміром до початку лікування) або навіть до усунення або часткового усунення пухлини. Відповідно, згідно з деякими варіантами здійснення способи регресії пухлини, представленні в даному документі, можуть бути, як альтернатива, охарактеризовані, як способи зниження розміру пухлини порівняно з початковим рівнем.

Використовуваний у даному документі термін "пухлина" являє собою злоякісну пухлину й використовується взаємозамінно з терміном "рак".

Використовуваний у даному документі термін "рецептор естрогену альфа" або "ER $\alpha$ " стосується поліпептиду, який містить, складається з або складається по суті з амінокислотної послідовності ER $\alpha$  дикого типу, яка кодується геном ESR1.

Пухлина, яка є "позитивною за рецептором естрогену альфа", "ER $\alpha$ -позитивною", "ER+" або "ER $\alpha$ +", як використовується в даному документі, стосується пухлини, в якій одна або декілька клітин експресують щонайменше одну ізоформу ER $\alpha$ .

Використовуваний у даному документі термін "стандарт лікувальних терапевтичних засобів" стосується засобів, відомих і традиційно використовуваних для лікування ракових захворювань, як-от раку молочної залози, які включають в себе інгібітори ароматази (AI, наприклад, летрозол, анастрозол і ексеместан), селективні модулятори рецептора естрогену (SERM, наприклад, тамоксифен, тореміфен, дролоксифен, ідоксифен, ралоксифен, лазофоксифен, арзофоксифен, міпроксифен, левормелоксифен і EM-652 (SCH 57068)) і/або селективні деструктори рецептора естрогену (SERD, наприклад, фулвестрант, TAS-108 (SR16234), ZK191703, RU58668, GDC-0810 (ARN-810), GW5638/DPC974, SRN-927, ICI182782 і AZD9496).

Способи лікування

Згідно з деякими варіантами здійснення дане розкриття стосується способу інгібування й руйнування позитивного за мутантним рецептором естрогену альфа раку у суб'єкта, який передбачає введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості елацестранту або його фармацевтично прийнятних солі чи сольвату.

Згідно з іншими варіантами здійснення дане розкриття стосується способу лікування стійкого до лікарського засобу позитивного за рецептором естрогену альфа раку у суб'єкта, який має мутантний рецептор естрогену альфа, при цьому спосіб передбачає введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості елацестранту або його фармацевтично прийнятних солі чи сольвату, при цьому мутантний рецептор естрогену альфа містить одну або декілька мутацій, вибраних із групи, яка складається з D538G, Y537X<sub>1</sub>, L536X<sub>2</sub>, P535H, V534E, S463P, V392I, E380Q та їхніх комбінацій, при цьому X<sub>1</sub> являє собою S, N або C; і X<sub>2</sub> являє собою R або Q.

Введення елацестранту

Елацестрант або його сольвати (наприклад, гідрати) чи солі при введенні суб'єкту чинять терапевтичний ефект щодо одного(однієї) або декількох ракових захворювань або пухлин. Інгібування росту пухлини або регресія можуть бути локалізовані в окремій пухлині або в низці пухлин в певних тканині або органі, або можуть бути системними (тобто вражати пухлини у всіх тканинах або органах).

Оскільки елацестрант, як відомо, переважно зв'язує ER $\alpha$  порівняно з рецептором естрогену бета (ER $\beta$ ), якщо не зазначено інше, терміни "рецептор естрогену", "рецептор естрогену альфа", "ER $\alpha$ ", "ER" і "ER $\alpha$  дикого типу" використовуються взаємозамінно в даному документі. Згідно з деякими варіантами здійснення ER+ клітини надекспресують ER $\alpha$ . Згідно з деякими

варіантами здійснення хворий має одну або декілька клітин у пухлині, які експресують одну або декілька форм ER $\beta$ . Згідно з деякими варіантами здійснення ER $\alpha$ -позитивні пухлина й/або рак асоційовані з раком молочної залози, матки, яєчника або гіпофіза. Згідно з деяким із таких варіантів здійснення хворий має пухлину, розташовану в тканині молочної залози, матки, яєчника або гіпофіза. Згідно з такими варіантами здійснення, якщо хворий має пухлину, розташовану в молочній залозі, то пухлина може бути асоційована з внутрішньопротоковим раком молочної залози, який може бути або може не бути позитивним за HER2, і, що стосується HER2+ пухлин, пухлини можуть експресувати високий рівень або низький рівень HER2. Згідно з іншими варіантами здійснення хворий має пухлину, розташовану в інших тканині або органі (наприклад, у кістці, м'язі, головному мозку), проте вона асоційована з раком молочної залози, матки, яєчника або гіпофіза (наприклад, пухлини, що розвинулися внаслідок міграції або метастазування раку молочної залози, матки, яєчника або гіпофіза). Відповідно, згідно з деякими варіантами здійснення способів інгібування росту пухлини або регресії пухлини, представлених у даному документі, пухлина, на яку здійснюється націлювання, являє собою метастатичну пухлину й/або пухлину, що характеризується надекспресією ER, у інших органах (наприклад, кістках і/або м'язах). Згідно з деякими варіантами здійснення пухлина, на яку здійснюється націлювання, являє собою пухлину й/або рак головного мозку. Згідно з деякими варіантами здійснення пухлина, на яку здійснюється націлювання, може бути більш чутливою до лікування елацестрантом, ніж до лікування іншим SERD (наприклад, фулвестрантом, TAS-108 (SR16234), ZK191703, RU58668, GDC-0810 (ARN-810), GW5638/DPC974, SRN-927 і AZD9496), інгібіторами Her2 (наприклад, трастузумабом, лапатинібом, адо-трастузумабом емтанзином і/або пертузумабом), хіміотерапією (наприклад, абраксаном, адриаміцином, карбоплатином, цитоксаном, даунорубіцином, доксилом, еленсом, фторурацилом, гемзаром, хелавеном, іксемпрою, метотрексатом, мітоміцином, мікоксантроном, навельбіном, таксоллом, таксотером, тіотепою, вінкристином і кселодою), інгібітором ароматази (наприклад, анастрозолом, ексеместаном і летрозолом), селективними модуляторами рецептора естрогену (наприклад, тамоксифеном, ралоксифеном, лазофоксифеном і/або тореміфеном), інгібітором ангиогенезу (наприклад, бевацизумабом) і/або ритуксимабом.

На додаток до демонстрації здатності елацестранту інгібувати ріст пухлини у випадку пухлин, які експресують ER $\alpha$  дикого типу, елацестрант володіє здатністю інгібувати ріст пухлин, які експресують мутантну форму ER $\alpha$ , а саме Y537S ER $\alpha$ . Оцінювання за допомогою комп'ютерного моделювання прикладів мутацій ER $\alpha$  показали, що жодна з цих мутацій не повинна була впливати на LBD або специфічно перешкоджати зв'язуванню елацестрантом, наприклад, ER $\alpha$ , який включає в себе один або декілька мутантів, вибраних із групи, яка складається з ER $\alpha$  з мутацією Y537X, при цьому X являє собою S, N або C, ER $\alpha$  з мутацією D538G і ER $\alpha$  з мутацією S463P. На основі цих результатів у даному документі представлені способи інгібування росту або забезпечення регресії пухлини, яка є позитивною за ER $\alpha$ , який включає в себе один або декілька мутантів ER $\alpha$  за ліганд-зв'язувальним доменом (LBD), вибраних із групи, яка складається з Y537X1, при цьому X1 являє собою S, N або C, D538G, L536X2, при цьому X2 являє собою R або Q, P535H, V534E, S463P, V392I, E380Q, особливо Y537S, у суб'єкта з раком, шляхом введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості елацестранту або його сольватів (наприклад, гідратів) чи солей. Використовуваний у даному документі термін "мутантний ER $\alpha$ " стосується ER $\alpha$ , який містить одну або декілька замінів або делецій, і його варіантів, які містять, складаються з або складаються по суті з амінокислотної послідовності, щонайменше на 80 %, щонайменше на 85 %, щонайменше на 90 %, щонайменше на 95 %, щонайменше на 97 %, щонайменше на 98 %, щонайменше на 99 % або щонайменше на 99,5 % ідентичної щодо амінокислотної послідовності ER $\alpha$ .

На додаток до інгібування росту пухлини раку молочної залози на тваринній моделі ксенотрансплантата елацестрант демонструє значне накопичення в пухлинних клітинах і здатність долати гематоенцефалічний бар'єр. Здатність долати гематоенцефалічний бар'єр підтверджується демонстрацією того, що введення елацестранту істотно збільшує виживаність на моделі ксенотрансплантата з метастазуванням у головному мозку. Відповідно, згідно з деякими варіантами здійснення способів інгібування росту пухлини або регресії пухлини, представлених у даному документі, ER $\alpha$ -позитивна пухлина, на яку здійснюється націлювання, розташована в головному мозку або будь-де в центральній нервовій системі. Згідно з деякими із таких варіантів здійснення ER $\alpha$ -позитивна пухлина переважно пов'язана з раком головного мозку. Згідно з іншими варіантами здійснення ER $\alpha$ -позитивна пухлина являє собою метастатичну пухлину, яка переважно пов'язана з іншим типом раку, як-от рак молочної залози, матки, яєчника або гіпофіза, або пухлину, яка мігрувала з інших тканини або органа. Згідно з деякими із таких варіантів здійснення пухлина являє собою метастази головного мозку, як-от

метастази раку молочної залози в головний мозок (BCBM). Згідно з деякими варіантами здійснення способів, розкритих у даному документі, елацестрант або його сольвати (наприклад, гідрати) чи солі накопичуються в одній або декількох клітинах у цільовій пухлині.

Згідно з деякими варіантами здійснення способів, розкритих у даному документі, елацестрант або його сольвати (наприклад, гідрати) чи солі переважно накопичуються в пухлині за відношення Т/Р (концентрація елацестранту в пухлині/концентрація елацестранту в плазмі) приблизно 15 або вище, приблизно 18 або вище, приблизно 19 або вище, приблизно 20 або вище, приблизно 25 або вище, приблизно 28 або вище, приблизно 30 або вище, приблизно 33 або вище, приблизно 35 або вище, або приблизно 40 або вище.

#### 10 Дозування

Терапевтично ефективна кількість комбінації елацестранту або його сольватів (наприклад, гідратів) чи солей для застосування в способах, розкритих у даному документі, являє собою кількість, яка при введенні за певний проміжок часу приводить до досягнення одного або декількох терапевтичних показників (наприклад, уповільнення або усунення росту пухлини, що приводить до регресії пухлини, призупинення симптомів тощо). Комбінація для застосування в розкритих у даному документі способах може бути введена суб'єкту один раз або декілька разів. Згідно з такими варіантами здійснення, за яких сполуки вводять декілька разів, їх можна вводити з інтервалами, наприклад, один раз на добу, через добу, один раз на тиждень або один раз на місяць. Як альтернатива, їх можна вводити з нерегулярними інтервалами, наприклад, за необхідності, ґрунтуючись на симптомах, стані здоров'я хворого тощо. Терапевтично ефективна кількість комбінації може бути введена один раз на добу протягом однієї доби, щонайменше 2 діб, щонайменше 3 діб, щонайменше 4 діб, щонайменше 5 діб, щонайменше 6 діб, щонайменше 7 діб, щонайменше 10 діб або щонайменше 15 діб. Необов'язково, стан раку або регресію пухлини контролюють під час або після лікування, наприклад, за допомогою FES-PET сканування у суб'єкта. Дозування комбінації, що вводиться суб'єкту, може бути підвищене або знижене залежно від стану раку або виявленої регресії пухлини.

В ідеалі, терапевтично ефективна кількість не перевищує максимального стерпного дозування, за якого 50 % або більше суб'єктів, що одержують лікування, відчувають нудоту або інші токсичні реакції, які перешкоджають подальшим введенням лікарського засобу. Терапевтично ефективна кількість може варіюватися для суб'єкта залежно від низки факторів, зокрема від мінливості й ступеня вираженості симптомів, статі, віку, маси тіла або загального стану здоров'я суб'єкта, способу введення й типу солі або сольвату, мінливості в чутливості до лікарського засобу, конкретного типу захворювання тощо

Приклади терапевтично ефективних кількостей елацестранту або його сольватів (наприклад, гідратів) чи солей для застосування в способах, розкритих у даному документі, включають в себе без обмеження дозування від приблизно 150 до приблизно 1500 мг, від приблизно 200 до приблизно 1500 мг, від приблизно 250 до приблизно 1500 мг або від приблизно 300 до приблизно 1500 мг один раз на добу для суб'єктів, які мають стійкі викликані ER пухлини або ракові захворювання; дозування від приблизно 150 до приблизно 1500 мг, від приблизно 200 до приблизно 1000 мг, або від приблизно 250 до приблизно 1000 мг, або від приблизно 300 до приблизно 1000 мг один раз на добу для суб'єктів, які мають як викликані ER дикого типу пухлини й/або ракові захворювання, так і стійкі пухлини й/або ракові захворювання; і дозування від приблизно 300 до приблизно 500 мг, від приблизно 300 до приблизно 550 мг, від приблизно 300 до приблизно 600 мг, від приблизно 250 до приблизно 500 мг, від приблизно 250 до приблизно 550 мг, від приблизно 250 до приблизно 600 мг, від приблизно 200 до приблизно 500 мг, від приблизно 200 до приблизно 550 мг, від приблизно 200 до приблизно 600 мг, від приблизно 150 до приблизно 500 мг, від приблизно 150 до приблизно 550 мг або від приблизно 150 до приблизно 600 мг один раз на добу для суб'єктів, які мають переважно викликані ER дикого типу пухлини й/або ракові захворювання. Згідно з деякими варіантами здійснення дозування сполуки формули I (наприклад, елацестранту) або його солі чи сольвату для застосування в розкритих у даному документі способах, загальних для дорослого суб'єкта, може становити приблизно 200 мг, 400 мг, від 30 мг до 2000 мг, від 100 мг до 1500 мг або від 150 мг до 1500 мг перорально один раз на добу. Таке дозування один раз на добу може бути досягнуте за допомогою однократного введення або декількох введень.

Введення дози елацестранту у разі лікування раку молочної залози, зокрема стійких ліній, а також випадків з експресією мутантного(их) рецептора(ів), варіює від 100 мг до 1000 мг на добу. Наприклад, доза елацестранту може становити 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 або 1000 мг на добу. Зокрема, відмічені 200 мг, 400 мг, 500 мг, 600 мг, 800 мг і 1000 мг на добу. Надзвичайно тривалий період напівжиття елацестранту у людей після перорального введення робить цей варіант особливо доцільним. Відповідно, лікарський засіб може бути введений як

200 мг два рази на добу (загальна добова доза 400 мг), 250 мг два рази на добу (загальна добова доза 500 мг), 300 мг два рази на добу (загальна добова доза 600 мг), 400 мг два рази на добу (загальна добова доза 800 мг) або 500 мг два рази на добу (загальна добова доза 1000 мг). Згідно з деякими варіантами здійснення введення дози є пероральним.

5 Згідно з деякими варіантами здійснення способів, розкритих у даному документі, елацестрант або його сольват (наприклад, гідрат) чи сіль переважно накопичується в пухлині за відношення Т/Р (концентрація елацестранту в пухлині/концентрація елацестранту в плазмі) приблизно 15 або вище, приблизно 18 або вище, приблизно 19 або вище, приблизно 20 або  
10 вище, приблизно 25 або вище, приблизно 28 або вище, приблизно 30 або вище, приблизно 33 або вище, приблизно 35 або вище, або приблизно 40 або вище.

Елацестрант або його сольвати (наприклад, гідрати) чи солі можна вводити суб'єкту один раз або декілька разів. Згідно з такими варіантами здійснення, якщо сполуки вводять декілька разів, то вони можуть бути введені з інтервалами, наприклад, один раз на добу, через добу, один раз на тиждень або один раз на місяць. Як альтернатива, вони можуть бути введені з нерегулярними інтервалами, наприклад, за необхідності, ґрунтуючись на симптомах, стані  
15 здоров'я хворого тощо.

#### Склад

Згідно з деякими варіантами здійснення елацестрант або його сольвати (наприклад, гідрати) чи солі вводять як частину одного складу. Наприклад, елацестрант або його сольвати  
20 (наприклад, гідрати) чи солі складають в одну пілюлю для перорального введення або в однократну дозу для ін'єкції. Згідно з деякими варіантами здійснення введення сполук в одному складі покращує дотримання хворим режиму й схеми лікування.

Згідно з деякими варіантами здійснення склад, який містить елацестрант або його сольвати (наприклад, гідрати) чи солі, може додатково містити один або декілька фармацевтичних  
25 допоміжних засобів, носіїв, ад'ювантів і/або консервантів.

Елацестрант або його сольвати (наприклад, гідрати) чи солі для застосування в розкритих у даному документі способах можуть бути складені в одиничні дозовані форми, що означають фізично дискретні одиниці, придатні як одиничне дозування для суб'єктів, що перебувають на лікуванні, при цьому кожна одиниця містить наперед визначену кількість активного матеріалу,  
30 розраховану на досягнення бажаного терапевтичного ефекту, необов'язково разом з придатним фармацевтичним носієм. Одинична дозована форма може бути призначена для однократної добової дози або однієї з декількох добових доз (наприклад, від приблизно 1 до 4 або більше разів на добу). У разі використання декількох добових доз одинична дозована форма може бути однаковою або різною для кожної дози. Згідно з деякими варіантами здійснення сполуки можуть  
35 бути складені для контрольованого вивільнення.

Елацестрант або його сольвати (наприклад, гідрати) чи солі, а також солі або сольвати для застосування в розкритих у даному документі способах, можуть бути складені згідно з будь-яким доступним традиційним способом. Приклади переважних дозованих форм включають в себе таблетку, порошок, дрібну гранулу, гранулу, покриту таблетку, капсулу, сироп, пастилку,  
40 інгаляційну форму, супозиторій, ін'єкційну форму, мазь, мазь для очей, краплі для очей, назальні краплі, вушні краплі, катаплазму, лосьйон тощо. У складі можуть бути використані зазвичай використовувані добавки, як-от розріджувач, зв'язуваний засіб, розпушувач, змащувальний засіб, барвник, ароматизатор і за необхідності стабілізатор, емульгатор, підсилювач абсорбції, поверхнево-активний засіб, регулятор рН, антисептичний засіб,  
45 антиоксидант тощо. Крім того, складання також здійснюють шляхом об'єднання композицій, які зазвичай використовують як сировинний матеріал для фармацевтичного складу, згідно з традиційними способами. Приклади таких композицій включають в себе, наприклад, (1) олію, як-от соєва олія, телячий жир і синтетичний гліцерид; (2) вуглеводень, як-от рідкий парафін, сквалан і твердий парафін; (3) естерну олію, як-от октилдодецилміристинова кислота й ізопропілміристинова кислота; (4) вищий спирт, як-от цетостеариловий спирт і бегеніловий спирт; (5) силіконову смолу; (6) силіконову олію; (7) поверхнево-активний засіб, як-от поліоксиетиленовий естер жирної кислоти, естер сорбітану й жирної кислоти, естер гліцерину й жирної кислоти, естер поліоксиетиленсорбітану й жирної кислоти, тверда поліоксиетиленова касторова олія й блок-співполімер поліоксиетилену й поліоксипропілену; (8) водорозчинні макромолекули, як-от гідроксиетилцелюлоза, поліакрилова кислота, карбоксивініловий полімер, поліетиленгліколь, полівінілпіролідон і метилцелюлоза; (9) нижчий спирт, як-от етанол та ізопропанол; (10) полівалентний спирт, як-от гліцерин, пропіленгліколь, дипропіленгліколь і сорбіт; (11) цукор, як-от глюкоза й тростинний цукор; (12) неорганічний порошок, як-от безводна силікатна кислота, алюмосилікат магнію і силікат алюмінію; і (13) очищену воду тощо. Добавки  
50 для застосування у вищезазначених складах можуть включати в себе, наприклад, 1) лактозу,  
60

кукурудзяний крохмаль, сахарозу, глюкозу, маніт, сорбіт, кристалічну целюлозу й діоксид кремнію як розріджувач; 2) полівініловий спирт, полівініловий етер, метилцелюлозу, етилцелюлозу, аравійську камедь, трагакант, желатин, шелак, гідроксипропілцелюлозу, гідроксипропілметилцелюлозу, полівінілпіролідон, блок-співполімер поліпропіленгліколю й поліоксиетилену, меглумін, цитрат кальцію, декстрин тощо як зв'язуваний засіб; 3) крохмаль, агар, желатиновий порошок, кристалічну целюлозу, карбонат кальцію, бікарбонат натрію, цитрат кальцію, декстрин, пектинову кислоту, карбоксиметилцелюлозу/кальцій тощо як розпушувач; 4) стеарат магнію, тальк, поліетиленгліколь, оксид кремнію, конденсовану рослинну олію тощо як змащувальний засіб; 5) будь-які барвники, при цьому як барвник придатні ті, додавання яких є фармацевтично прийнятним; 6) какао-порошок, ментол, ароматизатор, олію м'яти перцевої, порошок кориці як ароматизатор; і 7) антиоксиданти, додавання яких є прийнятним з фармацевтичного погляду, як-от аскорбінова кислота або альфа-токоферол.

Елацестрант або його сольвати (наприклад, гідрати) чи солі для застосування в розкритих у даному документі способах можуть бути складені в фармацевтичну композицію у вигляді однієї або декількох активних сполук, описаних у даному документі, і фізіологічно прийнятному носія (який також називається фармацевтично прийнятним носієм, або розчином, або розріджувачем). Такі носії й розчини включають в себе фармацевтично прийнятні солі й сольвати сполук, використовуваних у способах відповідно до даного винаходу, і суміші, які містять дві або більше з таких сполук, фармацевтично прийнятних солей сполук і фармацевтично прийнятних сольватів сполук. Такі композиції одержують згідно з прийнятними фармацевтичними процедурами, як, наприклад, описаними в роботі Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th edition, ed. Alfonso R. Gennaro, Mack Publishing Company, Eaton, Pa. (1985), яка включена в даний документ за допомогою посилання.

Термін "фармацевтично прийнятний носій" стосується носія, який не викликає алергічної реакції або іншого небажаного ефекту у хворих, яким його вводять, і є сумісним з іншими інгредієнтами в складі. Фармацевтично прийнятні носії включають в себе, наприклад, фармацевтичні розріджувачі, допоміжні засоби або носії, належним чином вибрані з урахуванням передбачуваної форми введення й узгоджувані із загальноприйнятною фармацевтичною практикою. Наприклад, тверді носії/розріджувачі включають в себе без обмеження камедь, крохмаль (наприклад, кукурудзяний крохмаль, попередньо желатизований крохмаль), цукор (наприклад, лактозу, маніт, сахарозу, декстрозу), целюлозний матеріал (наприклад, мікрокристалічну целюлозу), акрилат (наприклад, поліметилакрилат), карбонат кальцію, оксид магнію, тальк або їхні суміші. Фармацевтично прийнятні носії, крім того, можуть включати в себе незначні кількості допоміжних речовин, як-от зволожувальні або емульгуювальні засоби, консерванти або буфери, які підвищують термін зберігання або ефективність терапевтичного засобу.

Елацестрант або його сольвати (наприклад, гідрати) чи солі у вільній формі можна перетворити на сіль традиційними способами. Використовуваний у даному документі термін "сіль" не є обмеженим, якщо сіль утворена з елацестрантом або його сольватами (наприклад, гідратами) або солями і є фармакологічно прийнятною; переважні приклади солей включають в себе гідрогалогенідну сіль (наприклад, хлористоводневу, бромистоводневу, йодистоводневу тощо), сіль неорганічної кислоти (наприклад, сульфат, нітрат, перхлорат, фосфат, карбонат, бікарбонат тощо), органічну сіль карбонової кислоти (наприклад, сіль оцтової кислоти, сіль maleїнової кислоти, сіль винної кислоти, сіль фумарової кислоти, сіль лимонної кислоти тощо), органічну сіль сульфенової кислоти (наприклад, сіль метансульфенової кислоти, сіль етансульфенової кислоти, сіль бензолсульфенової кислоти, сіль толуолсульфенової кислоти, сіль камфорсульфенової кислоти тощо), сіль амінокислоти (наприклад, сіль аспарагінової кислоти, сіль глутамінової кислоти тощо), сіль четвертинного амонію, сіль лужного металу (наприклад, сіль натрію, сіль калію тощо), сіль лужноземельного металу (сіль магнію, сіль кальцію тощо) тощо. Крім того, хлористоводнева сіль, сіль сульфатної кислоти, сіль метансульфенової кислоти, сіль оцтової кислоти тощо є переважними як "фармакологічно прийнятні солі" сполук відповідно до даного винаходу.

Ізомери елацестранту або його сольватів (наприклад, гідратів) чи солей (наприклад, геометричні ізомери, оптичні ізомери, ротамери, таутомери тощо) можуть бути очищені з використанням загальних засобів розділення, включаючи, наприклад, перекристалізацію, оптичне розділення, як-от спосіб діастереомерних солей, спосіб ферментативного фракціонування, різні види хроматографії (наприклад, тонкошарова хроматографія, хроматографія на колонках, хроматографія зі скляною колонкою тощо), до одного ізомеру. Термін "один ізомер" у даному документі включає в себе не тільки ізомер, який

характеризується чистотою 100 %, але також ізомер, який включає в себе ізомер, відмінний від цільового, який є наявним навіть у разі традиційної операції очищення. У випадку елацестранту або його сольватів (наприклад, гідратів) чи солей і/або фулвестранту іноді існує кристалічний поліморф, і всі їхні кристалічні поліморфи включені в даний винахід. Кристалічний поліморф іноді є окремим, а іноді є сумішшю, причому і те, й інше включені в даний документ.

Згідно з деякими варіантами здійснення елацестрант або його сольвати (наприклад, гідрати) чи солі можуть мати форму проліків, що означає, що вони повинні піддаватися деякій зміні (наприклад, окисненню або гідролізу) для набуття своєї активної форми. Як альтернатива, елацестрант або його сольвати (наприклад, гідрати) чи солі можуть являти собою сполуку, одержану шляхом перетворення початкових проліків в їхню активну форму.

#### Шлях введення

Шляхи введення елацестранту або його сольватів (наприклад, гідратів) чи солей включають в себе без обмеження місцеве введення, пероральне введення, внутрішньошкірне введення, внутрішньом'язове введення, внутрішньочеревне введення, внутрішньовенне введення, інтравезикальну інфузію, підшкірне введення, черезшкірне введення й трансмукозальне введення. Згідно з деякими варіантами здійснення шлях введення є пероральним.

#### Профілювання генів

Згідно з деякими варіантами здійснення способи інгібування росту пухлини або регресії пухлини, представлені в даному документі, додатково передбачають профілювання генів суб'єкта, при цьому ген, який підлягає профілюванню, являє собою один або декілька генів, вибраних із групи, яка складається з ABL1, AKT1, AKT2, ALK, APC, AR, ARID1A, ASXL1, ATM, AURKA, BAP, BAP1, BCL2L11, BCR, BRAF, BRCA1, BRCA2, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CDH1, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CEBPA, CTNNB1, DDR2, DNMT3A, E2F3, EGFR, EML4, EPHB2, ERBB2, ERBB3, ESR1, EWSR1, FBXW7, FGF4, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, FRS2, HIF1A, HRAS, IDH1, IDH2, IGF1R, JAK2, KDM6A, KDR, KIF5B, KIT, KRAS, LRP1B, MAP2K1, MAP2K4, MCL1, MDM2, MDM4, MET, MGMT, MLL, MPL, MSH6, MTOR, MYC, NF1, NF2, NKX2-1, NOTCH1, NPM, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PIK3R1, PML, PTEN, PTPRD, RARA, RB1, RET, RICTOR, ROS1, RPTOR, RUNX1, SMAD4, SMARCA4, SOX2, STK11, TET2, TP53, TSC1, TSC2 і VHL. Згідно з іншими варіантами здійснення ген, який підлягає профілюванню, являє собою один або декілька генів, вибраних із групи, яка складається з AKT1, AKT2, BRAF, CDK4, CDK6, PIK3CA, PIK3R1 і MTOR.

Згідно з деякими варіантами здійснення даний винахід стосується способу лікування субпопуляції хворих на рак молочної залози, при цьому зазначена субпопуляція характеризується підвищеною експресією одного або декількох генів, розкритих вище, і лікування зазначеної субпопуляції за допомогою ефективною дози елацестранту або його сольватів (наприклад, гідратів) чи солей згідно з варіантами здійснення введення дози, описаними в даному розкритті.

#### Коректування дози

Окрім встановлення здатності елацестранту інгібувати ріст пухлини, елацестрант інгібує зв'язування естрадіолу з ER у матці й гіпофізі. У цих експериментах зв'язування естрадіолу з ER у тканині матки й гіпофіза оцінювали за допомогою візуалізації FES-PET. Після лікування елацестрантом спостережуваний рівень зв'язування ER був на рівні початкового значення або нижче. Ці результати показують, що антагоністичний ефект елацестранту щодо активності ER можна оцінювати за допомогою сканування в режимі реального часу. На основі цих результатів у даному документі представлені способи моніторингу ефективності лікування елацестрантом або його сольватами (наприклад, гідратами) чи солями в рамках комбінованої терапії, розкритої в даному документі, шляхом вимірювання зв'язування естрадіолу з ER в одній або декількох цільових тканинах, при цьому зменшення або зникнення зв'язування вказує на ефективність.

Крім того, представлені способи коректування дозування елацестранту або його сольватів (наприклад, гідратів) чи солей в рамках комбінованої терапії, розкритої в даному документі, на основі зв'язування естрадіолу з ER. Згідно з деякими варіантами здійснення цих способів зв'язування вимірюють в певній точці після одного або декількох введень першого дозування сполуки. Якщо зв'язування естрадіолу з ER не порушено, або спостерігається зниження нижче заданої межі (наприклад, зниження зв'язування порівняно з початковим рівнем менше ніж 5 %, менше ніж 10 %, менше ніж 20 %, менше ніж 30 % або менше ніж 50 %), то перше дозування вважається занадто низьким. Згідно з деякими варіантами здійснення ці способи передбачають додаткову стадію введення збільшеного другого дозування сполуки. Ці стадії можна повторювати, багаторазово збільшуючи дозування доти, доки не буде досягнуто бажане зниження зв'язування естрадіолу з ER. Згідно з деякими варіантами здійснення ці стадії можуть бути включені в способи інгібування росту пухлини, представлені в даному документі. У цих

способах зв'язування естрадіолу з ER може служити індикатором інгібування росту пухлини або додатковим засобом оцінки інгібування росту. Згідно з іншими варіантами здійснення ці способи можна використовувати разом з введенням елацестранту або його сольватів (наприклад, гідратів) чи солей для цілей, відмінних від інгібування росту пухлини, включаючи, наприклад, інгібування проліферації ракових клітин.

Згідно з деякими варіантами здійснення способи, представлені в даному документі, для коректування дозування елацестранту або його солі чи сольвату (наприклад, гідрату) в рамках комбінованої терапії передбачають

(1) введення першого дозування елацестранту або його солі чи сольвату (наприклад, гідрату) (наприклад, від приблизно 350 до приблизно 500 або від приблизно 200 до приблизно 600 мг/добу) протягом 3, 4, 5, 6 або 7 діб;

(2) виявлення активності зв'язування естрадіолу з ER; при цьому

(i) якщо активність зв'язування ER не виявляється або нижче попередньо визначеного порогового рівня, продовжують вводити перше дозування (тобто підтримують рівень дозування); або

(ii) якщо активність зв'язування ER виявляється або вище попередньо визначеного порогового рівня, вводять друге дозування, яке перевищує перше дозування (наприклад, перше дозування плюс від приблизно 50 до приблизно 200 мг) протягом 3, 4, 5, 6 або 7 діб, потім переходять до стадії (3);

(3) виявлення активності зв'язування естрадіолу з ER; при цьому

(i) якщо активність зв'язування ER не виявляється або нижче попередньо визначеного порогового рівня, продовжують вводити друге дозування (тобто підтримують рівень дозування); або

(ii) якщо активність зв'язування ER виявляється або вище попередньо визначеного порогового рівня, вводять третє дозування, яке перевищує друге дозування (наприклад, друге дозування плюс від приблизно 50 до приблизно 200 мг) протягом 3, 4, 5, 6 або 7 діб, потім переходять до стадії (4);

(4) повторення описаних вище стадій для четвертого дозування, п'ятого дозування тощо, доти, доки не буде виявлена відсутність активності зв'язування ER.

Згідно з деякими варіантами здійснення даний винахід стосується застосування візуалізації PET для виявлення й/або лікування чутливих до ER або стійких до ER ракових захворювань.

Наступні приклади представлені для кращої ілюстрації заявленого винаходу й не повинні інтерпретуватися як обмеження обсягу даного винаходу. Тією ж мірою, якою згадуються конкретні матеріали, вони є виключно ілюстративними й не призначені для обмеження даного винаходу. Фахівець у даній галузі зможе розробити еквівалентні засоби або реагенти, без зайвої винахідницької діяльності й не виходячи за рамки даного винаходу. Слід враховувати, що в описані в даному документі процедури можна внести безліч змін, не виходячи при цьому за межі обсягу даного винаходу. Автори даного винаходу передбачають включення таких варіантів в обсяг даного винаходу.

Приклади

Матеріали та способи

Тестовані сполуки

Елацестрант, використовуваний у наведених нижче прикладах, являв собою (6R)-6-(2-(N-(4-(2-(етиламіно)етил)бензил)-N-етиламіно)-4-метоксифеніл)-5,6,7,8-тетрагідронафтаден-2-ола дигідрохлорид, виготовлений, наприклад, компанією IRIX Pharmaceuticals, Inc. (Florence, SC). Елацестрант зберігали у вигляді сухого порошку, складеного для застосування у вигляді гомогенної суспензії в 0,5 % (мас./об.) метилцелюлози в деіонізованій воді, і для тваринних моделей вводили перорально. Тамоксифен, ралоксифен і естрадіол (E2) одержували від компанії Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) і вводили шляхом підшкірної ін'єкції. Фулвестрант одержували від компанії Tocris Biosciences (Minneapolis, MN) і вводили шляхом підшкірної ін'єкції. Інші лабораторні реагенти були придбані у компанії Sigma-Aldrich, якщо не відмічено інше.

Моделі PDX

Пухлини пересаджували у вигляді фрагментів безтимусним голим мишам (Nu (NCR)-Foxp1<sup>nu</sup>). Одержані від хворих фрагменти ксенотрансплантата CTG-1211 (Champions Oncology), ST2535 (START) і WHIM43 (Horizon) імплантували мишам без додавання естрадіолу. Всіх мишей утримували у вільному від патогенів приміщенні, в індивідуально вентильованих клітках зі стерилізованою й незапиленою підстилкою з качанів, із доступом до стерилізованого корму й води ad libitum, в умовах циклу світла й темряви (12-14-часового циркадного циклу штучного освітлення) і за контрольованої кімнатної температури й вологості. Пухлини

вимірювали два рази на тиждень штангенциркулем Верньє, об'єми розраховували з використанням формули  $(L \cdot W^2) \cdot 0,52$ . Елацестрант вводили перорально один раз на добу протягом всього дослідження. Фулвестрант вводили підшкірно один раз на тиждень.

Кількісна PCR у режимі реального часу (RT-qPCR)

5 In vivo моделі ксенотрансплантата

У кінці дослідження пухлини подрібнювали за допомогою імпактора CryoPREP™ (Covaris) і загальну РНК екстрагували за допомогою мінінабору RNeasy (Qiagen). qPCR виконували з використанням Taqman Fast Virus 1-Step Master Mix і зондів TaqMan™ (Applied Biosystems). Значення Ct аналізували для оцінки відносних змін експресії мРНК PgR (рецептора прогестерону) з GAPDH як внутрішнім контролем з використанням способу 2- $\Delta\Delta$ CT.

10

In vitro моделі ксенотрансплантата

У кінці обробки клітини лізували буфером для лізису з набору 1-Step Cells-to-Ct і лізати обробляли відповідно до інструкцій виробника. qPCR виконували з використанням 1-Step Master Mix і зондів TaqMan™ (Applied Biosystems). Значення Ct аналізували для оцінки відносних змін експресії мРНК PgR (рецептора прогестерону) з GAPDH як внутрішнім контролем з використанням способу 2- $\Delta\Delta$ CT.

15

Ефективність засобу

Для всіх досліджень, починаючи з доби 0, розміри пухлини вимірювали за допомогою цифрового штангенциркуля й дані, зокрема індивідуальні й середні оцінювані об'єми пухлини (середнє  $TV \pm SEM$ ), реєстрували для кожної групи; об'єм пухлини розраховували з використанням формули (Yasui et al. Invasion Metastasis 17:259-269 (1997), яка включена в даний документ за допомогою посилання):  $TV = \text{ширина}^2 \times \text{довжина} \times 0,52$ . Кожні групи або дослідження завершували, коли оцінюваний середній об'єм пухлини в групі досягав кінцевої точки об'єму пухлини (TV) (кінцева точка часу становила 60 днів, кінцевою точкою об'єму було середнє значення групи  $2 \text{ см}^3$ ), при цьому окремих мишей, у яких об'єму пухлини досягав  $2 \text{ см}^3$  або більше, виключали з дослідження, і останнє вимірювання включали в середнє значення групи доти, доки середнє значення не досягало кінцевої точки об'єму, або доки дослідження не досягло кінцевої точки часу.

20

25

Обчислення ефективності і статистичний аналіз

Значення % інгібування росту пухлини (% TGI) розраховували в єдиній точці часу (коли контрольна група досягала об'єму пухлини або кінцевої точки часу) і реєстрували для кожної групи лікування (T) порівняно з контролем (C) з використанням початкового (i) і кінцевого (f) вимірювань пухлини за формулою (Corbett TH et al. In vivo methods for screening and preclinical testing. In: Teicher B, ed., Anticancer Drug Development Guide. Totowa, NJ: Humana. 2004: 99-123) %  $TGI = 1 - T_f - T_i / C_f - C_i$ .

30

35

Статистичний аналіз

Статистичний аналіз виконували з використанням GraphPadPrism 7.0 і дані зазвичай виражали у вигляді середнього значення  $\pm SEM/SD$ . Порівняння груп лікування виконували з використанням однофакторного аналізу ANOVA, статистичні аналізи виконували з апостеріорним критерієм Даннетта. Статистичні показники виражали наступним чином: n. з. - не значуще; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$ .

40

Збір зразків

У кінцевій точці пухлини видаляли. Один фрагмент миттєво заморожували, в той час як інший фрагмент поміщали в 10 % NBF щонайменше на 24 години, фіксували формаліном і заливали парафіном (FFPE). Миттєво заморожені зразки зберігали за  $-80^\circ\text{C}$ ; FFPE блоки зберігали за кімнатної температури.

45

Вестерн-блотинг

Клітини або пухлини збирали після введення дози й аналізували експресію білка з використанням стандартних методик і наступних антитіл: ER $\alpha$ , PR (Cell Signaling Technologies, № за каталогом 13258, № 3153) і вінкулін: Sigma-Aldrich, № v9131). Експресію білка кількісно оцінювали з використанням програмного забезпечення AzureSpot і нормалізували за експресією вінкуліна.

50

Приклади

На Фіг. 1 видно, що елацестрант інгібує проліферацію й передачу сигналу ER в in vitro моделях, які містять різні мутації ESR1, зокрема в лініях ракових клітин клону 1 Y537S, клону 2 Y537S, клону 1 D538G, клону 2 D538G і клону 1 S463P. Ілюстративні зображення, представлені у верхньому ряду, візуалізують пухлинні клітини, оброблені контролем у вигляді середовища-носія, для ліній мутованих ракових клітин клону 1 Y537S, клону 2 Y537S, клону 1 D538G, клону 2 D538G і клону 1 S463P. На зображеннях, представлених у нижньому ряду, візуалізуються пухлинні клітини клону 1 Y537S, клону 2 Y537S, клону 1 D538G, клону 2 D538G і клону 1 S463P,

60



оброблені елацестрантом при 100 нМ.

На Фіг. 2 видно, що елацестрант продемонстрував залежне від дози інгібування росту пухлини й регресію пухлини на моделях ксенотрансплантата безтимусних голих мишей. На Фіг. 2 показано середнє +/- SEM об'ємів пухлини з плином часу на мишачих моделях ксенотрансплантата, які обробляли контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30, 60 і 120 мг/кг) і фулвестрантом (1 мг/доза).

На Фіг. 3А-3С видно, що елацестрант інгібує передачу сигналу ER *in vitro* в моделях, які містять різні мутації ESR1, при цьому на ілюстративних гістограмах показано зниження маркерів проліферації в моделях ксенотрансплантатів *in vitro*. На Фіг. 3А представлена кратність зміни відносно контролю рецептора прогестерону (PgR) для моделей пухлинних клітин, які мають мутації дикого типу, S463P, D538G і Y537S, оброблених контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (10, 100 і 1000 нМ), E2 (10 пМ) і фулвестрантом (10, 100 1000 нМ). На Фіг. 3В представлена кратність зміни відносно контролю росту, регульованого естрогеном (GREB1), на моделях пухлинних клітин, які мають мутації дикого типу, S463P, D538G і Y537S, оброблених контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (10, 100 і 1000 нМ), E2 (10 пМ) і фулвестрантом (10, 100 1000 нМ). На Фіг. 3С представлена кратність зміни відносно контролю фактора "трилісника" 1 (TFF1) на моделях пухлинних клітин, які мають мутації дикого типу, S463P, D538G і Y537S, оброблених контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (10, 100 і 1000 нМ), E2 (10 пМ) і фулвестрантом (10, 100 1000 нМ).

На Фіг. 4А-4С видно, що елацестрант продемонстрував залежне від дози інгібування росту пухлини на багатьох моделях PDX, які мають мутацію ESR1:D538G. На Фіг. 4А показано середнє +/- SEM об'ємів пухлини з плином часу у безтимусних голих мишей, яким імплантували ксенотрансплантат PDX ST2535-HI (з попередньою обробкою тамоксифеном, інгібітором ароматази й фулвестрантом) з мутацією ESR1:D538G, яких обробляли контролем у вигляді середовища-носія й елацестрантом (30 і 60 мг/кг). На Фіг. 4В показано середнє +/- SEM об'ємів пухлини з плином часу у безтимусних голих мишей, яким імплантували ксенотрансплантат PDX CTG-1211-HI (з попередньою обробкою тамоксифеном, інгібітором ароматази й фулвестрантом) з мутацією ESR1:D538G, яких обробляли контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза). На Фіг. 4С показано середнє +/- SEM об'ємів пухлини з плином часу у безтимусних голих мишей, яким імплантували ксенотрансплантат PDX WHIM43-HI (з попередньою обробкою тамоксифеном, інгібітором ароматази й фулвестрантом) з мутацією ESR1:D538G, яких обробляли контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза).

На Фіг. 5А-5F показано, що елацестрант руйнує ER та інгібує передачу сигналу ER на моделях PDX, які мають мутації ESR1:D538G, на моделях ксенотрансплантата у безтимусних голих мишей. На Фіг. 5А показана кратність зміни відносно контролю у вигляді середовища-носія вмісту мПНК рецептора прогестерону (PgR) на моделі ксенотрансплантата PDX ST2535-HI (з попередньою обробкою тамоксифеном, інгібітором ароматази й фулвестрантом) з мутацією ESR1:D538G, яку обробляли контролем у вигляді середовища-носія й елацестрантом (30 і 60 мг/кг). На Фіг. 5В проілюстрована блотограма, на якій продемонстрована експресія PgR на моделі ксенотрансплантата PDX ST2535-HI з мутацією ESR1:D538G, яку обробляли контролем у вигляді середовища-носія й елацестрантом (30 і 60 мг/кг). На Фіг. 5С показана кратність зміни відносно контролю у вигляді середовища-носія вмісту мПНК рецептора прогестерону (PgR) на моделі ксенотрансплантата PDX CTG-1211-HI (з попередньою обробкою тамоксифеном, інгібітором ароматази й фулвестрантом) з мутацією ESR1:D538G, яку обробляли контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза). На Фіг. 5D проілюстрована блотограма, на якій продемонстрована експресія PgR на моделі ксенотрансплантата PDX CTG-1211-HI з мутацією ESR1:D538G, обробленій контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом. На Фіг. 5E показана кратність зміни відносно контролю у вигляді середовища-носія вмісту мПНК рецептора прогестерону (PgR) на моделі ксенотрансплантата PDX WHIM43-HI (з попередньою обробкою тамоксифеном, інгібітором ароматази й фулвестрантом) з мутацією ESR1:D538G, яку обробляли контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом (3 мг/доза). На Фіг. 5F проілюстрована блотограма, на якій продемонстрована експресія PgR на моделі ксенотрансплантата PDX WHIM43-HI з мутацією ESR1:D538G, яку обробляли контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвестрантом.

На Фіг. 6А-6В показано, що елацестрант демонструє більше інгібування росту пухлини, ніж препарати порівняння SERD на моделях PDX ST941-HI, які мають мутації ESR1:Y537S. На Фіг. 6А показано середнє +/- SEM об'ємів пухлини з плином часу на моделі PDX ST941-HI, яка

містить мутацію ESR1:Y537S, яку обробляли контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвєстрантом (3 мг/доза, підшкірно, один раз на добу), дозою 1 serd1 і дозою 2 serd1. На Фіг. 6B показано середнє +/- SEM об'ємів пухлини з плином часу на моделі PDX ST941-HI, яка містить мутацію ESR1:Y537S, яку обробляли контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвєстрантом (3 мг/доза), дозою 1 serd2 і дозою 2 serd2.

На Фіг. 7A-7C показано, що елацестрант демонструє більше інгібування росту пухлини, ніж препарати порівняння SERD на моделях PDX ST941-HI, які мають мутації ESR1:Y537S. На Фіг. 7A показана кратність зміни відносно контролю у вигляді середовища-носія порівняно з вмістом мРНК рецептора прогестерону (PgR) на моделі PDX ST941-HI, яка містить мутацію ESR1:Y537S, яку обробляли контролем у вигляді середовища-носія, фулвєстрантом (3 мг/доза), елацестрантом (30 мг/кг), дозою 1 serd1, дозою 2 serd1, дозою 1 serd2 і дозою 2 serd2. На Фіг. 7B представлена блотограма для моделі PDX ST941-HI, яка містить мутацію ESR1:Y537S, що демонструє експресію PgR, яку обробляли контролем у вигляді середовища-носія, фулвєстрантом (3 мг/кг), елацестрантом (30 мг/кг), дозою 1 serd1 і дозою 2 serd1. На Фіг. 7C представлена блотограма для моделі PDX ST941-HI, яка містить мутацію ESR1:Y537S, що демонструє експресію PgR, яку обробляли контролем у вигляді середовища-носія, фулвєстрантом (3 мг/кг), елацестрантом (30 мг/кг), дозою 1 serd2 і дозою 2 serd2.

На Фіг. 8A-8B представлено оцінювання елацестранту й фулвєстранту та їхніх відповідних показників активності *in vitro*. На Фіг. 8A представлена *in vitro* життєздатність клітин (% контролю) відносно Log[концентрація (мкМ)] для лінії клітин PDX ST941-HI. На Фіг. 8B показана кратність зміни відносно контролю у вигляді середовища-носія вмісту мРНК рецептора прогестерону (PgR), нанесена на графік в залежності від концентрації елацестранту (0, 10, 100 і 1000 нМ) і фулвєстранту (0, 10, 100 і 1000 нМ), використовуваних у разі обробки *in vitro* лінії клітин ST941-HI, одержаної з PDX.

На Фіг. 9A-9B представлено оцінювання елацестранту й фулвєстранту та їхніх відповідних показників активності *in vitro*. На Фіг. 9A показано середнє +/- SEM об'ємів пухлини у мишей, яким імплантували PDX ST941-HI, який містить мутацію ESR1:Y537S, нанесене на графік в залежності від часу й обробки їх контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (10, 30 і 60 мг/кг) і фулвєстрантом (3 мг/доза). На Фіг. 9B показана кратність зміни відносно контролю експресії мРНК рецептора прогестерону (PgR) на моделі PDX ST941-HI, нанесена на графік в залежності від обробки їх контролем у вигляді середовища-носія, фулвєстрантом (3 мг/доза) й елацестрантом (10, 30 і 60 мг/кг).

На Фіг. 10A-10D показано, що елацестрант і фулвєстрант демонструють часткову ефективність на моделі мутантного PDX ESR1, яка має додаткові онкогенні мутації. На Фіг. 10A показано середнє +/- SEM об'ємів пухлини з плином часу у мишей, яким імплантували ксенотрансплантат PDX WHIM20 з мутацією ESR1:Y537Shom, з обробкою контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвєстрантом (3 мг/доза). На Фіг. 10B представлена кратність зміни відносно контролю у вигляді середовища-носія рецептора прогестерону (PgR) в ксенотрансплантаті PDX WHIM20 з мутацією ESR1:Y537Shom, обробленому контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвєстрантом (3 мг/доза). На Фіг. 10C представлена кратність зміни відносно контролю фактора "трилисника" 1 (TFF1) в ксенотрансплантаті PDX WHIM20 з мутацією ESR1:Y537Shom, обробленому контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвєстрантом (3 мг/доза). На Фіг. 10D представлена кратність зміни відносно контролю росту, регульованого естрогеном (GREB1), в ксенотрансплантаті PDX WHIM20 з мутацією ESR1:Y537Shom, обробленому контролем у вигляді середовища-носія, елацестрантом (30 і 60 мг/кг) і фулвєстрантом (3 мг/доза). На Фіг. 10E представлена блотограма для ксенотрансплантата PDX WHIM20 з мутацією ESR1:Y537Shom, який демонструє експресію PgR і оброблений контролем у вигляді середовища-носія, фулвєстрантом (3 мг/доза) і елацестрантом (30 і 60 мг/кг).

Інші варіанти здійснення

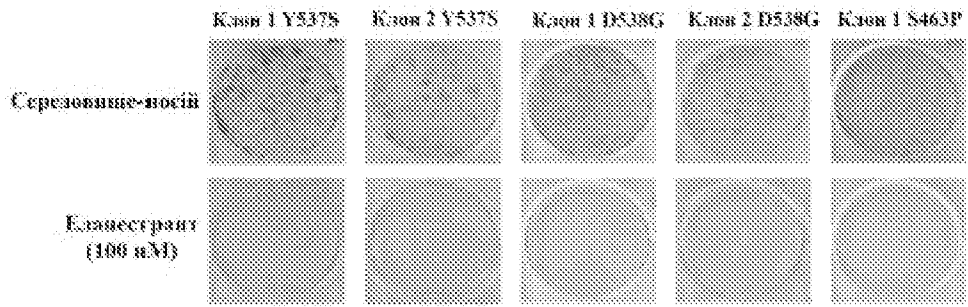
Всі публікації і патенти, згадані в даному розкритті, включені в даний документ за допомогою посилання в тій же мірі, як якби кожна окрема публікація або заявка на видачу патенту були спеціально та індивідуально вказані для включення за допомогою посилання. Якщо значення термінів в будь-якому з патентів або публікацій, включених за допомогою посилання, суперечить значенню термінів, які використовуються в даному розкритті, передбачається, що значення термінів у даному розкритті є визначальним. Крім того, попереднє обговорення розкриває й описує виключно ілюстративні варіанти здійснення даного винаходу. Фахівець у даній галузі техніки легко зрозуміє з такого обговорення, а також з доданих графічних

матеріалів і формули винаходу, що в них можуть бути внесені різні зміни, модифікації та варіації, що не виходять за рамки сутності й обсягу даного винаходу, який визначається наступною формулою винаходу.

5

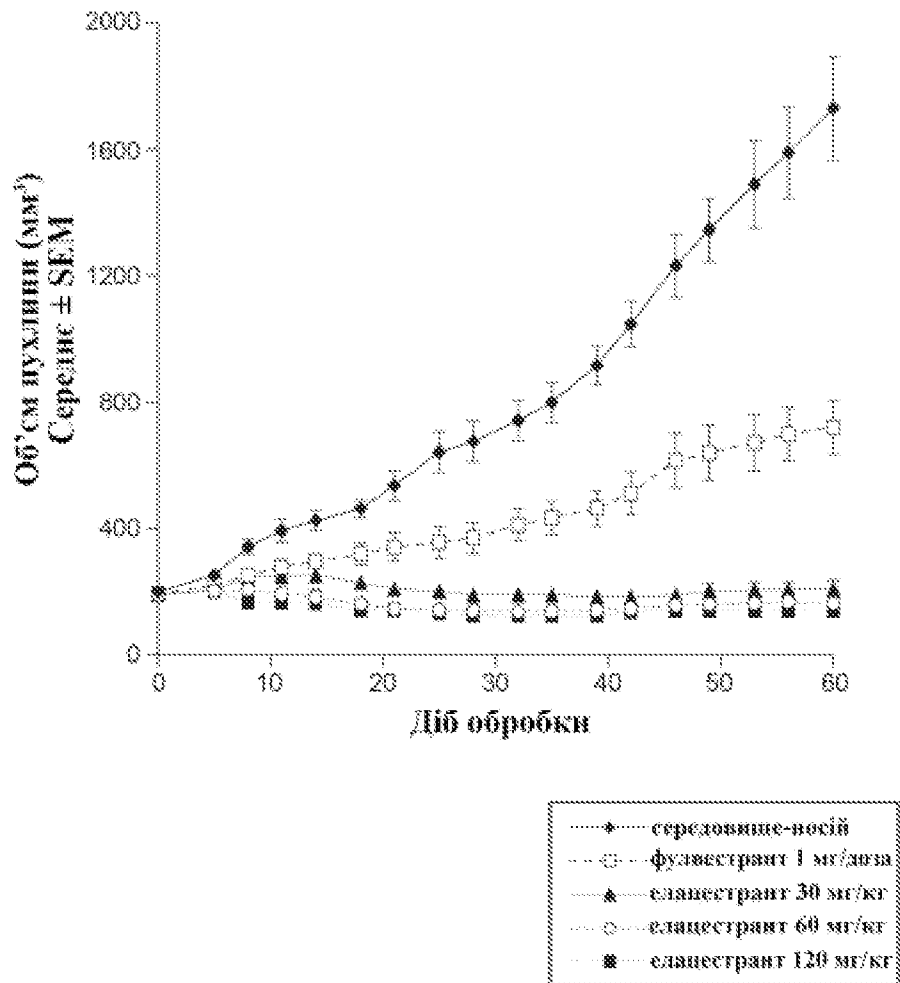
## ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб інгібування й руйнування позитивного за мутантним рецептором естрогену альфа раку молочної залози у суб'єкта, який раніше отримував лікування тамоксифеном, інгібітором ароматази та фулвестрантом, який передбачає введення суб'єкту терапевтично ефективної кількості дигідрохлориду елацестранту, при цьому рак не є позитивним за HER2, і рецептор естрогену альфа позитивний за мутацією, вибраною з групи Y537S, D537G та S463P, причому суб'єктом є жінка у пременопаузі або постменопаузі, а терапевтичний ефект досягається шляхом специфічного зв'язування елацестранту з мутантним рецептором естрогену, що забезпечує інгібування росту пухлинних клітин, стійких до стандартної терапії.
2. Спосіб за п. 1, в якому мутація являє собою Y537S.
3. Спосіб за п. 1, в якому мутація являє собою D538G.
4. Спосіб за будь-яким із пп. 1-3, в якому позитивний за мутантним рецептором естрогену альфа рак є стійким до лікарського засобу, вибраного з групи, яка складається з антиестрогенних засобів, інгібіторів ароматази та їхніх комбінацій.
5. Спосіб за будь-яким із пп. 1-4, в якому позитивний за мутантним рецептором естрогену альфа рак являє собою запущений або метастатичний рак молочної залози.
6. Спосіб за будь-яким із пп. 1-5, в якому суб'єкт являє собою жінку в постменопаузі, захворювання якої рецидивує або прогресує після попереднього лікування селективними модуляторами рецептора естрогену (SERM) й/або інгібіторами ароматази (AI).
7. Спосіб за будь-яким із пп. 1-6, в якому елацестрант вводять суб'єкту в дозі від 200 до 500 мг/добу.
8. Спосіб за будь-яким із пп. 1-7, в якому елацестрант вводять суб'єкту в дозі 200, 300, 400 або 500 мг/добу.
9. Спосіб за будь-яким із пп. 1-6, в якому елацестрант вводять суб'єкту в дозі, яка є максимальною стерпною дозою для суб'єкта.
10. Спосіб за будь-яким із пп. 1-9, при цьому спосіб додатково передбачає ідентифікацію суб'єкта для лікування шляхом вимірювання підвищеної експресії одного або декількох генів, вибраних із ABL1, AKT1, AKT2, ALK, APC, AR, ARID1A, ASXL1, ATM, AURKA, BAP, BAP1, BCL2L11, BCR, BRAF, BRCA1, BRCA2, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CDH1, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CEBPA, CTNNB1, DDR2, DNMT3A, E2F3, EGFR, EML4, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ESR1, EWSR1, FBXW7, FGF4, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, FRS2, HIF1A, HRAS, IDH1, IDH2, IGF1R, JAK2, KDM6A, KDR, KIF5B, KIT, KRAS, LRP1B, MAP2K1, MAP2K4, MCL1, MDM2, MDM4, MET, MGMT, MLL, MPL, MSH6, MTOR, MYC, NF1, NF2, NKX2-1, NOTCH1, NPM, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PIK3R1, PML, PTEN, PTPRD, RARA, RB1, RET, RICTOR, ROS1, RPTOR, RUNX1, SMAD4, SMARCA4, SOX2, STK11, TET2, TP53, TSC1, TSC2 і VHL.
11. Спосіб за п. 10, в якому один або декілька генів вибрані з AKT1, AKT2, BRAF, CDK4, CDK6, PIK3CA, PIK3R1 і MTOR.
12. Спосіб за будь-яким із пп. 1-11, в якому відношення концентрації елацестранту або його солі чи сольвату в пухлині до концентрації елацестранту або його солі чи сольвату в плазмі (Т/Р) після введення становить щонайменше приблизно 15.
13. Спосіб за п. 4, в якому антиестрогенні засоби вибрані з групи, яка складається з тамоксифену, тореміфену й фулвестранту, а інгібітори ароматази вибрані з групи, яка складається з ексеместану, летрозолу й анастрозолу.
14. Спосіб за п. 8, в якому елацестрант вводять суб'єкту в дозі 300 мг/добу.

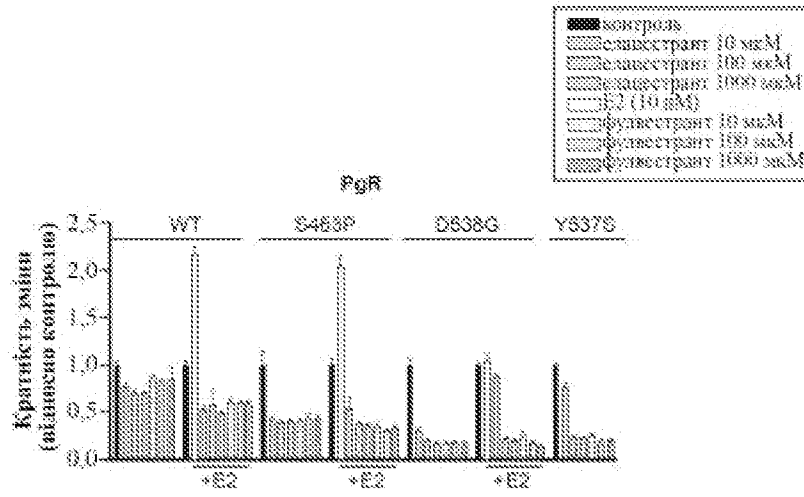


Фіг. 1

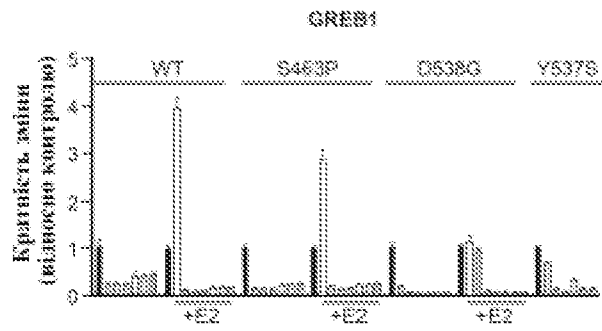
PDX: ST2177  
ESR1 mut: Y537S<sup>hms</sup>



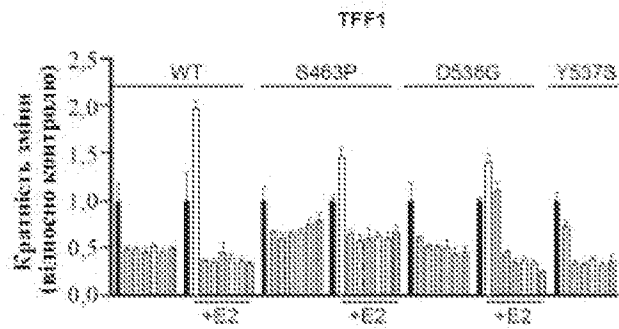
Фіг. 2



Фіг. 3А

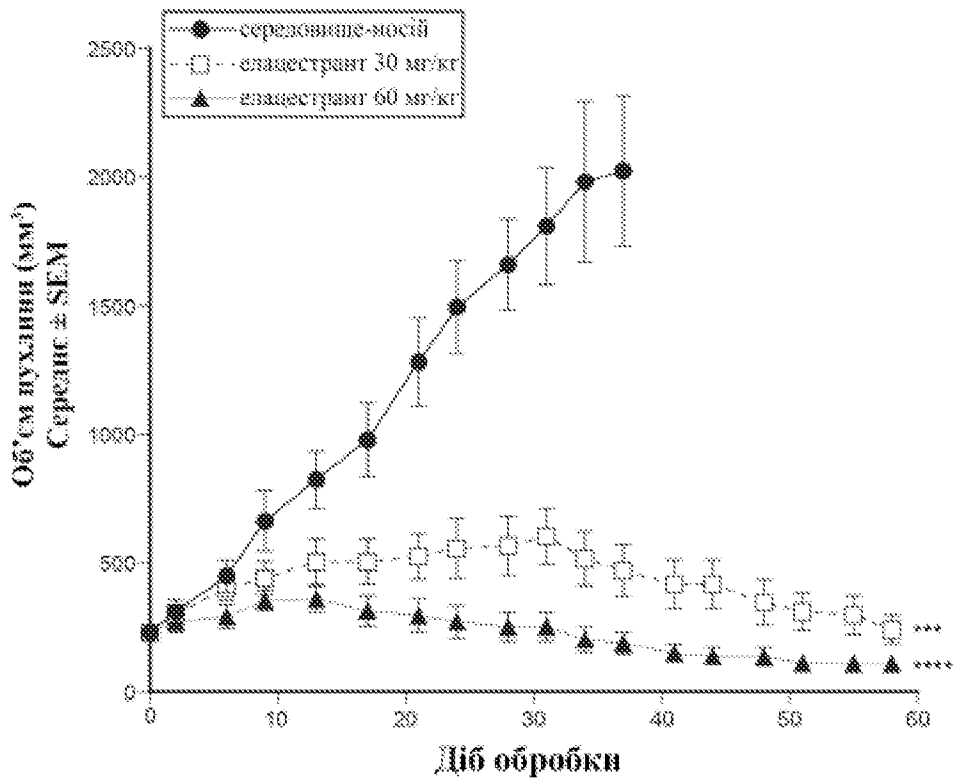


Фіг. 3В



Фіг. 3С

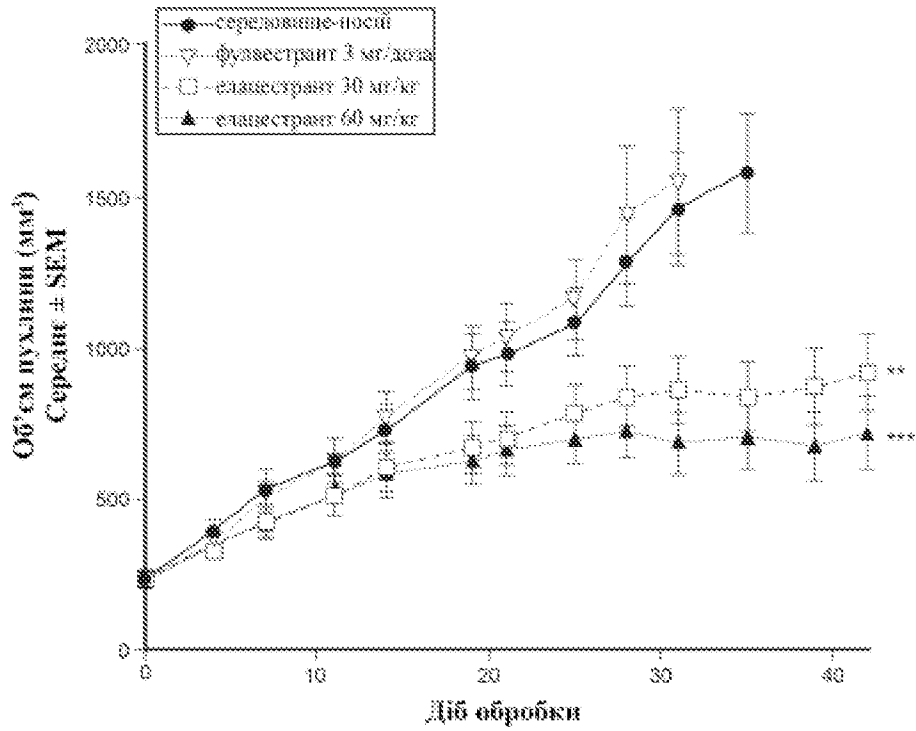
ST2535-HI  
 ESR1 mut: D538G  
 Попереднє лікування: Tam, AI, Ful



ns = не значуще, \*p < 0,05, \*\* p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, \*\*\*\*p < 0,0001  
 mut = мутант; Tam = тамоксифен; AI = інгібітор ароматази; Ful = фузвестрант

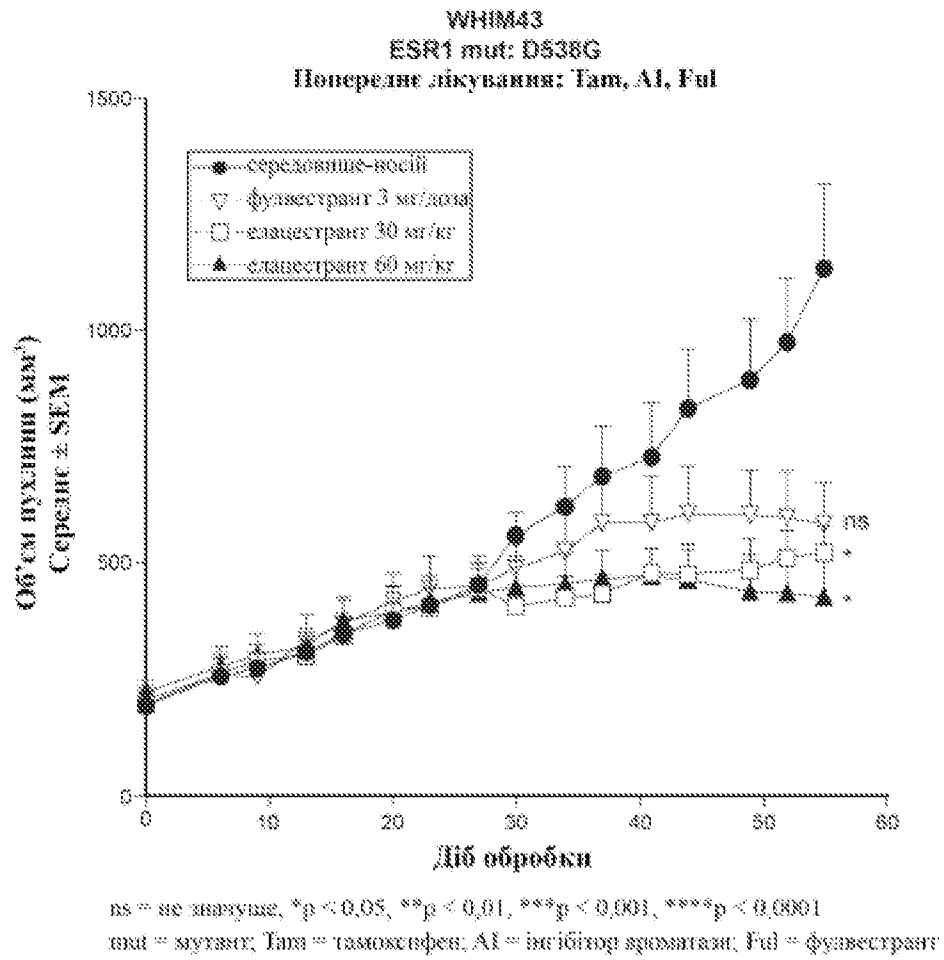
Фіг. 4А

CTG-1211-HH  
 ESR1 mut: D538G  
 Попереднє лікування: Tam, AI, Ful



ns = не значуще, \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, \*\*\*\*p < 0,0001  
 mut = мутант; Tam = тамоксифен; AI = інгібітор ароматази; Ful = фулвестрант

Фіг. 4В

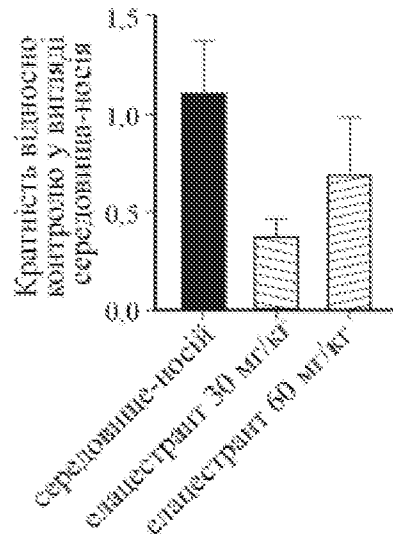


Фіг. 4С

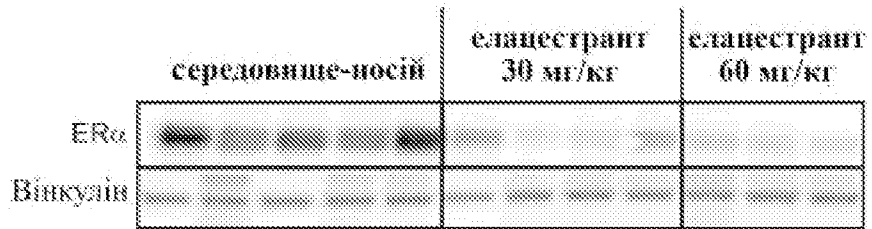


**ST2535-HI**  
**ESR1 mut: D538G**  
**Попереднє лікування: Tam, AI, Ful**

Вміст мРНК PgR

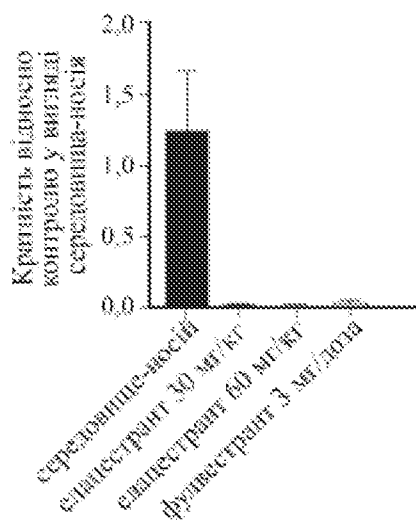


Фіг. 5А

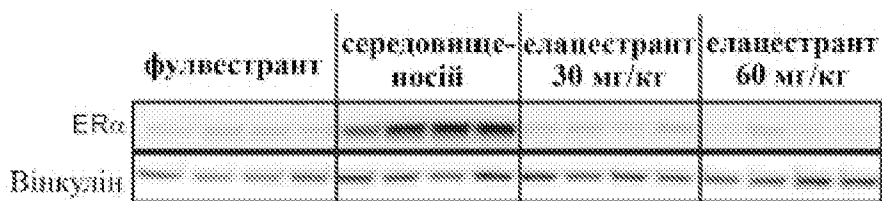


Фіг. 5В

CTG-1211-HI  
 ESR1 mut: D538G  
 Попереднє лікування: Там, АІ, фулвестрант  
 Вміст мРНК PgR

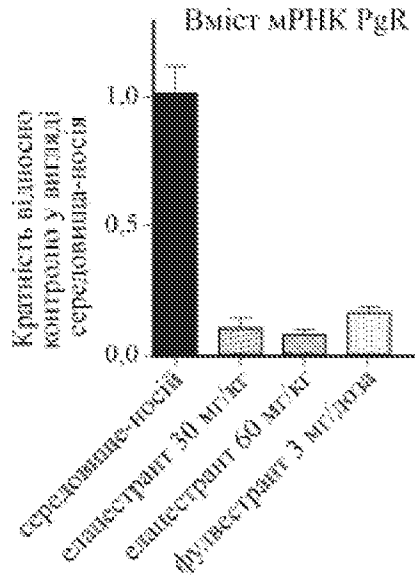


Фіг. 5С

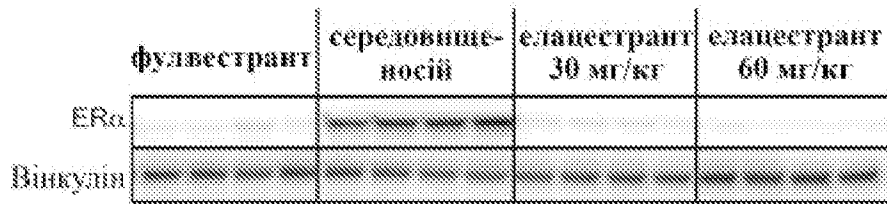


Фіг. 5D

WHIM43  
 ESR1 mut: D538G  
 Попереднє лікування: Tam, AI, фулвестрант

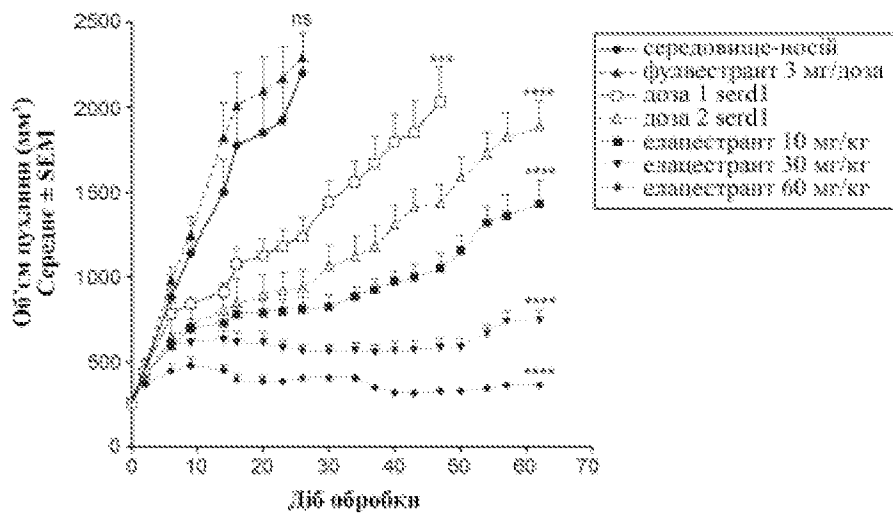


Фіг. 5Е

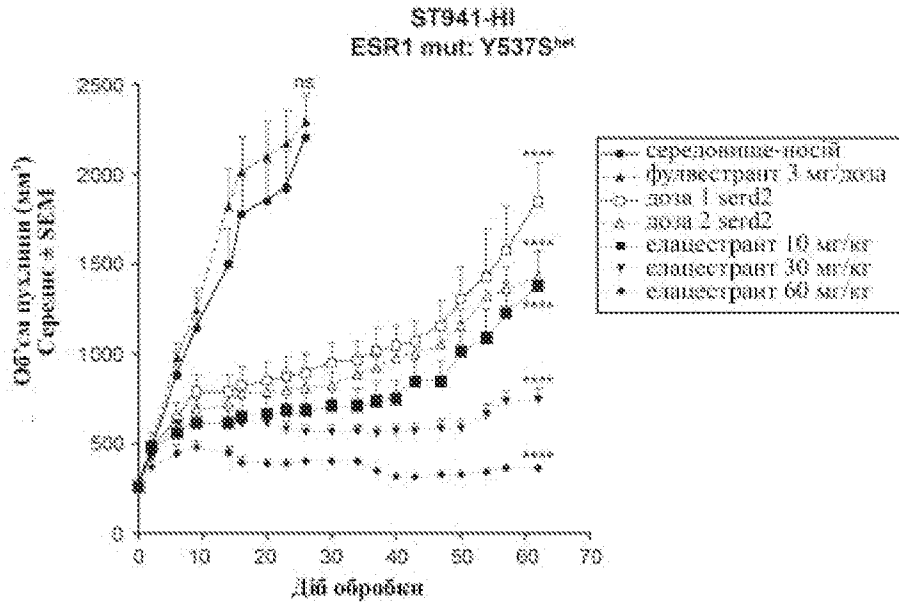


Фіг. 5F

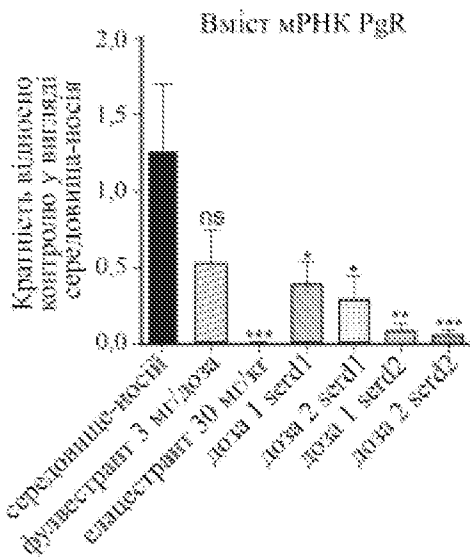
ST841-HH  
 ESR1 mut: Y537S<sup>het</sup>



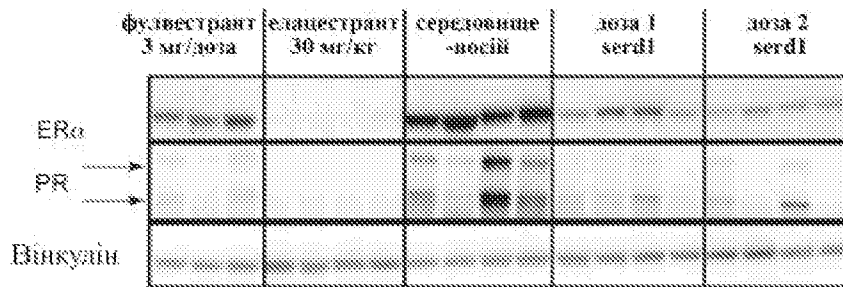
Фіг. 6А



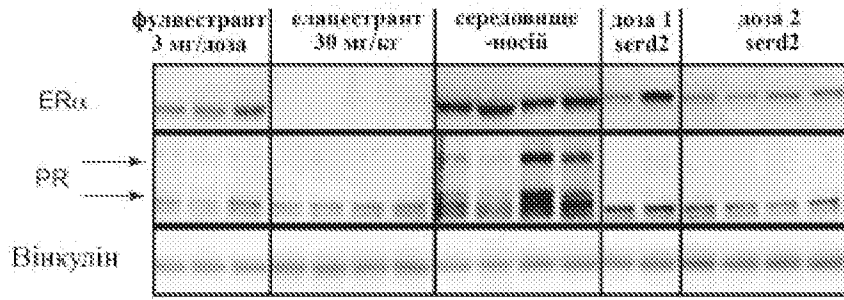
**Фіг. 6В**



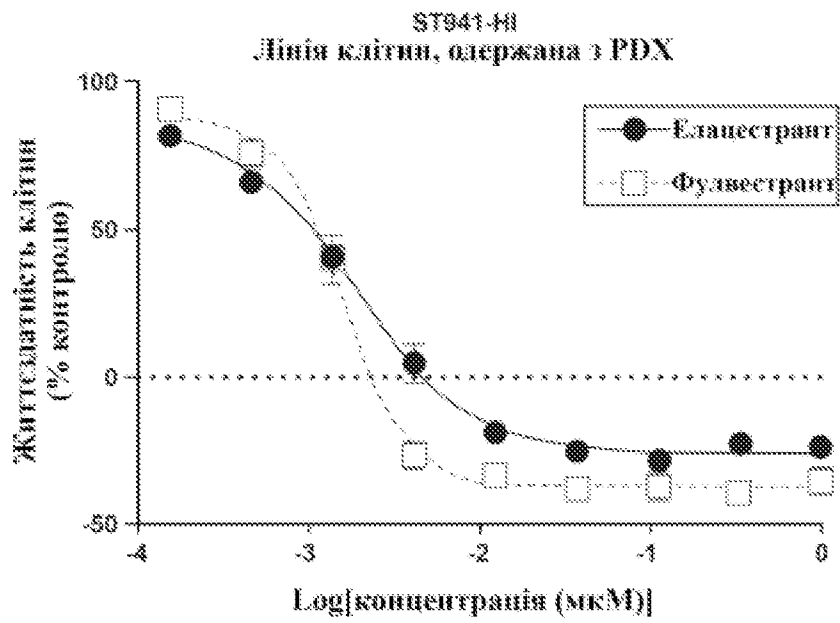
**Фіг. 7А**



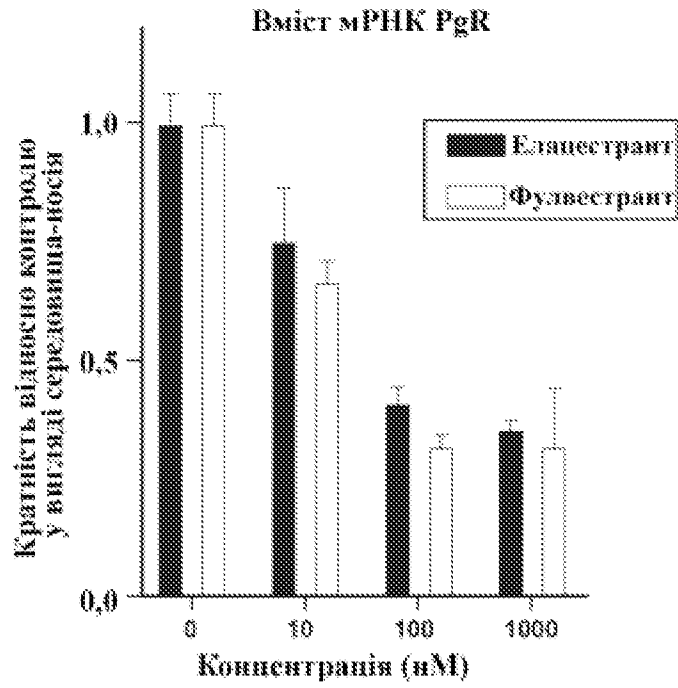
**Фіг. 7В**



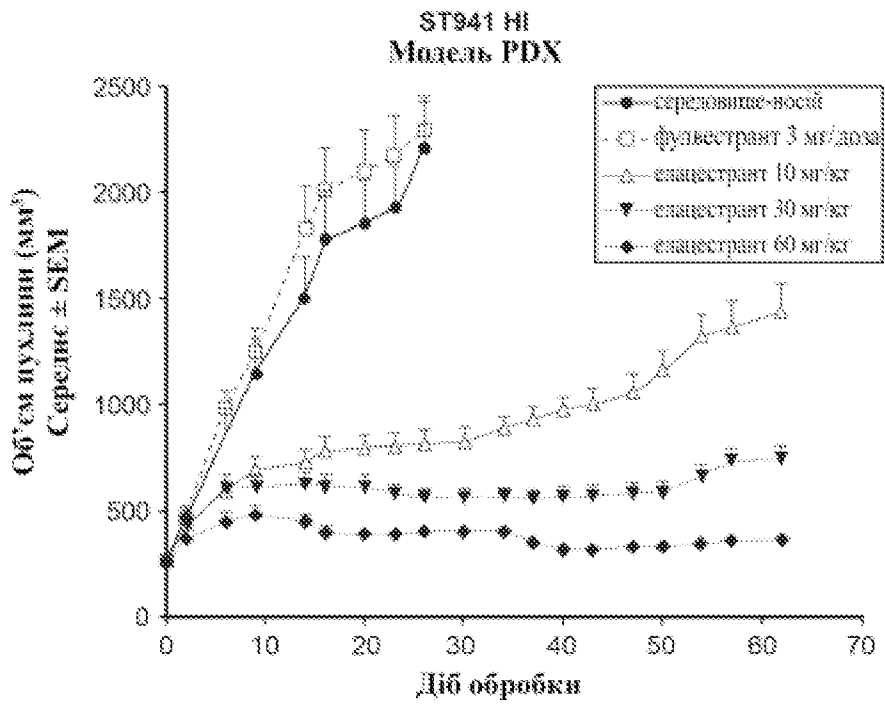
Фиг. 7С



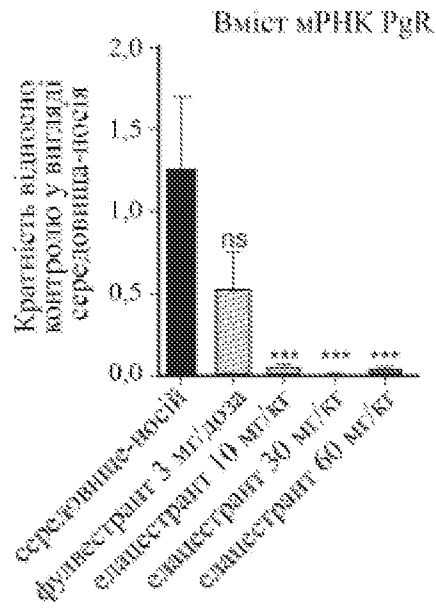
Фиг. 8А



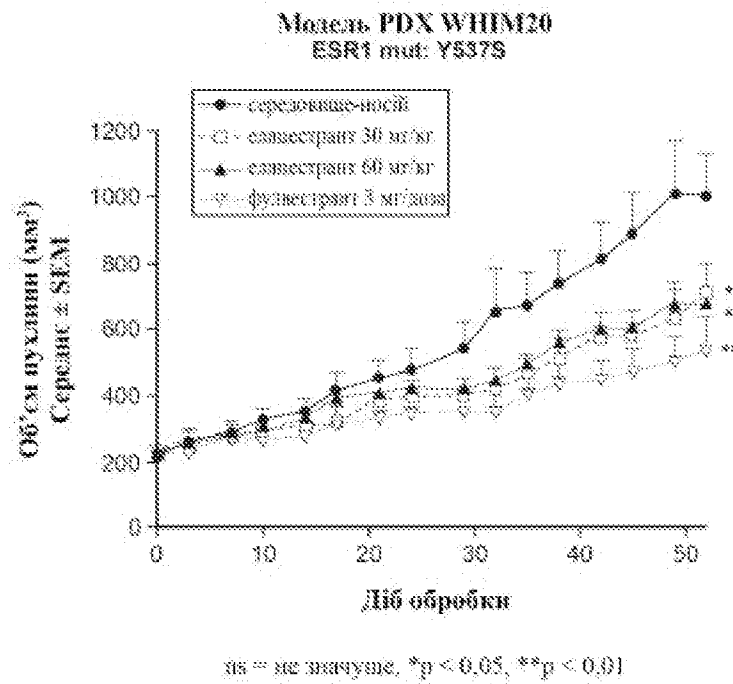
Фіг. 8В



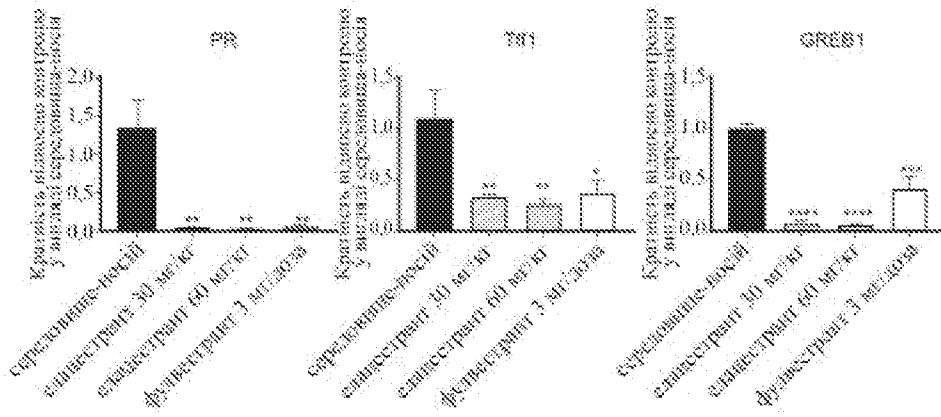
Фіг. 9А



**Фіг. 9Б**



**Фіг. 10А**



Фіг. 10B

Фіг. 10C

Фіг. 10D



Фіг. 10E