

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **037368**(13) **B1**

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2021.03.19**

(21) Номер заявки  
**201500373**

(22) Дата подачи заявки  
**2013.10.04**

(51) Int. Cl. *A61K 31/496* (2006.01)  
*A61K 31/7068* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

**(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ПАЦИЕНТА, СТРАДАЮЩЕГО ОТ СВЯЗАННОЙ С БОЛЕЗНЬЮ ИНТЕНСИВНОЙ БОЛИ, И ПРИМЕНЕНИЕ НАБОРА, СОДЕРЖАЩЕГО МАСИТИНИБ ИЛИ ЕГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИ ПРИЕМЛЕМУЮ СОЛЬ И ГЕМЦИТАНИБ, ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

(31) **12306214.3**

(32) **2012.10.04**

(33) **EP**

(43) **2016.02.29**

(86) **PCT/EP2013/070741**

(87) **WO 2014/053650 2014.04.10**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**АБ СЪЯНС (FR)**

(72) Изобретатель:  
**Мюсси Алан (FR), Кине Жан-Пьер (US), Пикемаль Давид (FR)**

(74) Представитель:  
**Баландина Л.А. (RU)**

(56) **WO-A1-2011092338**  
**WO-A2-2007015935**  
**WO-A1-2012170640**

**GANG ZHOU ET AL.:** "Detection and Clinical Significance of CD44v6 and Integrin- $\beta$ 1 in Pancreatic Cancer Patients using a

Triplex Real-Time RT-PCR Assay", APPLIED BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY; PART A: ENZYME ENGINEERING AND BIOTECHNOLOGY, HUMANA PRESS INC, NEW YORK, vol. 167, no. 8, 14 June 2012 (2012-06-14), pages 2257-2268, XP035098339, ISSN: 1559-0291, DOI: 10.1007/S12010-012-9752-2, abstract

**HUMBERT MARTINE ET AL.:** "Masitinib combined with standard gemcitabine chemotherapy: in vitro and in vivo studies in human pancreatic tumour cell lines and ectopic mouse model", PLOS ONE, PUBLIC LIBRARY OF SCIENCE, US, vol. 5, no. 3, 1 January 2010 (2010-01-01), pages e9430-1, XP009146696, ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0009430, the whole document

**Business Wire:** "AB Science reports phase 3 study results of masitinib in combination with Gemzar® for treatment of pancreatic cancer", 30 October 2012 (2012-10-30), XP002718427, Retrieved from the Internet:URL: <http://www.businesswire.com/news/home/20121030006279/en/AB-Science-reports-phase-3-study-results#.Us5dA10198E> [retrieved on 2014-01-08], the whole document

**(57)** Изобретение относится к способу лечения рака поджелудочной железы у пациента, страдающего от связанной с болезнью интенсивной боли, определяемой как по меньшей мере одно сообщение пациента о наличии боли интенсивностью более 20% при использовании одномерного инструмента оценки интенсивности боли, где одномерный инструмент оценки интенсивности боли представляет собой визуальную аналоговую шкалу, вербальную описательную шкалу или числовую рейтинговую шкалу, включающему введение маситиниба или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с гемцитабином, причем маситиниб или его фармацевтически приемлемую соль вводят ежедневно в дозе от 4,5 до 12,0 мг/кг веса тела пациента. Изобретение также относится к применению набора, содержащего маситиниб или его фармацевтически приемлемую соль и гемцитабин, для использования в лечении рака поджелудочной железы у пациента, страдающего от связанной с болезнью интенсивной боли, в способе изобретения.

**B1****037368****037368****B1**

### Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к способу лечения пациентов, страдающих от рака, при этом указанные пациенты получают лечение ингибитором тирозинкиназы, ингибитором тучных клеток или с-Kit ингибитором, в частности маситинибом, возможно в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом. Ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток или с-Kit ингибитор и, возможно, по крайней мере один противоопухолевый агент вводятся в режиме дозирования, который обеспечивает поступление терапевтически эффективного количества. Настоящее изобретение также относится к способам прогнозирования терапевтического ответа на указанное лечение у конкретного пациента и, следовательно, к установлению соответствующих субпопуляций пациентов на основании указанных прогностических факторов; в некоторых случаях обозначаемых как биомаркеры. Один способ основан на определении клинического маркера интенсивности боли. Предпочтительно настоящее изобретение относится к способу лечения пациентов, страдающих раком поджелудочной железы, при этом указанные пациенты получают лечение ингибитором тирозинкиназы, ингибитором тучных клеток или с-Kit ингибитором, в частности маситинибом, возможно в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом, в частности гемцитабином.

### Уровень техники

Роль тучных клеток в опухолевом микроокружении, онкогенезе и болевом синдроме при раке.

На протяжении процесса онкогенеза, прогрессирования онкологического заболевания и метастазирования микроокружение местной ткани-хозяина является активным участником и определяет масштаб пролиферации раковых клеток, ангиогенез, инвазию и выживаемость раковых клеток. Роль тучных клеток в онкогенезе до настоящего времени до конца не ясна, однако вполне возможно, что активация тучных клеток усиливает рост и распространение некоторых типов рака за счет продукции молекул, увеличивающих инвазивность опухоли. Кроме того, тучные клетки были напрямую связаны с развитием рака поджелудочной железы у модельных мышей, на которых также было показано, что высокие уровни инфильтрации опухолевого микроокружения тучными клетками являются прогностическим фактором неблагоприятного исхода, хотя точный механизм участия тучных клеток в развитии рака поджелудочной железы остается неясным [Chang D.Z. et al., Clin Cancer Res 2011; 17:7015-7023]. Следовательно, ингибирование функции тучных клеток может оказывать благоприятное терапевтическое действие в сдерживании роста опухолей, в онкогенезе которых принимают активное участие тучные клетки. Какие типы рака будут отвечать на лечение, мишенью которого является активность тучных клеток, в настоящее время точно неизвестно и остается дискуссионным вопросом. Существуют противоречивые данные о том, насколько тучные клетки способствуют или, наоборот, препятствуют онкогенезу, в зависимости от местных стромальных условий, а также о том, насколько высвобождаемые медиаторы усиливают пролиферацию тучных клеток или индуцируют апоптоз злокачественных клеток [Theoharides T.C. et al.; Trends Immunol. 2004, 25:235-41; Samoszuk M., et al., BMC Cancer, 2005, 21:121; Almholt K., et al., Recent Results Cancer Res. 2003, 162:31-42; Gooch J.L., et al., Cancer Res. 1998, 15:4199-205]. Кроме того, с учетом двойной роли тучных клеток в ингибировании или стимуляции опухолевого роста было показано, что высокая концентрация тучных клеток является благоприятным прогностическим фактором при раке молочной железы, немелкоклеточном раке легких и раке яичников [Galinsky D.S., et al., Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2008, 68:115-30; Ribatti D., et al., Int. Rev. Cell Mol. Biol. 2009, 275:89-131], однако она ассоциируется с неблагоприятным прогнозом при раке кожи (как меланоме, так и немеланомном раке и опухолях из клеток Меркеля) [Grimbaldeston M.A., et al., Br. J. Dermatol. 2004, 150:895-903; Grimbaldeston M.A., et al., J. Invest. Dermatol. 2000, 115:317-20], плоскоклеточная карцинома полости рта, некоторые типы лимфомы и рак предстательной железы [Galinsky D.S., et al., Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2008, 68:115-30; Ribatti D., et al., Int. Rev. Cell Mol. Biol. 2009, 275:89-131]. Также остается неясным, насколько инфильтрации тучными клетками или уровень их активации отражают степень выраженности симптомов, ассоциированных с тучными клетками; указанные два аспекта необязательно коррелируют друг с другом [Hermine O, et al., PLoS ONE. 2008, 3:2266].

Тучные клетки ассоциируются с различными заболеваниями, сопровождающимися болью, и считается, что они играют определенную роль в возникновении раковых болей. Тучные клетки связывают с патогенезом боли при тех состояниях, для которых боль является основным симптомом, но их не рассматривают в качестве объективного патологического признака, полагая, что анатомические нарушения не могут сами по себе вызывать боль; примеры включают хронический панкреатит, интерстициальный цистит и синдром раздраженного кишечника. Каждое из этих состояний ассоциируется с повышенным количеством тучных клеток в поджелудочной железе, мочевом пузыре или толстом кишечнике соответственно по сравнению с пациентами, не страдающими от болевого синдрома, обусловленного заболеванием. Хотя этиология болевого синдрома при раковых заболеваниях остается неясной, последние исследования в этой области указывают, что в опухолевом микроокружении раковые клетки и иммунные клетки продуцируют и секретируют медиаторы, которые активируют и повышают чувствительность афферентных ноцицепторов. Schmidt et al. исследовали механизмы раковой боли [Schmidt B.L., et al., Mol. Interv. 2010 Jun. 10(3):164-78] и резюмировали, что симптомы, испытываемые раковым больным, являются следствием клеточных, тканевых и системных изменений, происходящих во время пролиферации,

инвазии и метастазирования, при этом соответствующие механизмы иммунной защиты явно участвуют в патогенезе болевого синдрома при раке.

Таким образом, хотя и существуют свидетельства в пользу различного, непрямого участия тучных клеток в онкогенезе (т.е. тучные клетки сами по себе не являются пролиферирующими раковыми клетками) и в развитии болевого синдрома при раке, их гетерогенная и неоднозначная природа исключает наличие какого-либо ясного подхода к тому, каким образом воздействие на активность тучных клеток может оказывать терапевтический эффект у раковых пациентов; но один предположительный эффект заключается в том, что они увеличивают время выживания пациентов. Это четко установлено для тех типов рака, для которых установлено повышенное участие тучных клеток, таких как рак поджелудочной железы.

Раковая боль и фармакотерапевтический контроль боли.

Этиология раковой боли имеет комплексный характер и остается до конца непонятой. Раковая боль может быть очень тяжелой и изнурительной, существенно снижая качество жизни раковых больных, уже и так имеющих неблагоприятный прогноз. Считается, что при определенной форме рака поджелудочной железы абдоминальная боль и боль в спине являются серьезным осложнением, при этом приблизительно 75% больных с неоперабельной формой рака поджелудочной железы страдают от боли с момента постановки диагноза, а при увеличении тяжести заболевания - более 90% пациентов [Nameed M., et al., Cancers, 2011, 3, 43-60]. Боль при раке поджелудочной железы может быть висцеральной, соматической или нейропатической по своей природе, она вызывается повреждением ткани, воспалением, обструкцией протоков и инфильтрацией. Висцеральная ноцицептивная боль вызывается повреждением внутренних органов эпигастральной области, структур, которые наибольшим образом восприимчивы к растяжению, ишемии и воспалению и продуцируют трудно локализуемую, диффузную боль. Соматическая и нейропатическая боль может возникать в результате прорастания опухоли в окружающую брюшину, забрюшинное пространство, кости и, на последних стадиях, в нервы, например, формирующие лумбосакральное сплетение.

Обычно для купирования раковой боли используются опиоидные анальгетики, механизм действия которых основан главным образом на воздействии на центральную нервную систему. Однако их применение может приводить к нежелательным побочным эффектам, таким как запоры, сонливость, головокружение, проблемы с дыханием, а также физическая и психическая зависимость. Всемирная организация здравоохранения опубликовала стандартизированный протокол по режиму использования анальгетических препаратов для контроля над хронической раковой болью в форме "анальгетической шкалы" [[www.who.int/cancer/palliative/painladder/en/13.03.2012](http://www.who.int/cancer/palliative/painladder/en/13.03.2012)]. Данная схема рекомендует в случае возникновения боли начинать лечение с перорального приема лекарственных средств следующим образом: "неопиоидные анальгетики, такие как парацетамол в случае умеренной боли; затем, если необходимо, умеренные опиоидные анальгетики, такие как кодеин при уровне боли от умеренной до средней; затем сильные опиоидные анальгетики, такие как морфин в случае средней и сильной боли, до тех пор, пока болевой синдром у пациента не прекратится. Для подавления страха и нервозности необходимо использовать адъюванты. Для того чтобы поддерживать отсутствие болевого синдрома, лекарства необходимо вводить регулярно, т.е. каждые 3-6 ч или по требованию". Такой пошаговый подход основан на тяжести болевого синдрома в большей степени, чем на патофизиологических процессах, обуславливающих его возникновение; хотя он рекомендован и с учетом повышения эффективности доступных терапевтических методов купирования боли, различные механизмы возникновения болевого синдрома при раке (висцеральный, соматический и нейропатический) также необходимо принимать во внимание [Nameed M., et al., Cancers 2011, 3, 43-60].

Оценка болевого синдрома при раке и качество жизни раковых больных.

Для оценки и регистрации болевого синдрома при раке врач должен выбрать подходящие инструменты и процедуры. Однако в настоящее время не существует универсального апробированного инструмента для оценки выраженности болевого синдрома при раке или даже какой-либо концепции о том, что именно указанный инструмент должен оценивать. Вследствие этого существует большое разнообразие используемых подходов и направлений, что может влиять на достоверность оценки боли в целом и также делает сложным сравнения между исследованиями. Инструменты для оценки боли могут быть одномерными или многомерными. На основании литературных обзоров и мнений экспертных групп в целом считается, что одномерные инструменты находятся среди наиболее часто используемых инструментов для оценки болевого синдрома у раковых пациентов. Кроме того, для простой оценки изменений интенсивности боли, а также для оценки интенсивности боли в клинических исследованиях психометрически удовлетворительными были признаны инструменты, основанные на визуальной аналоговой шкале (ВАШ, Visual Analogue Scale) [Jensen, M.P., et al., J. Pain. 2003, 4(1):2-21]. Одномерные инструменты для оценки выраженности боли включают числовую рейтинговую шкалу (0 обозначает "отсутствие боли" и 10 - "невообразимо сильную боль"); вербальную описательную шкалу ("отсутствие боли", "слабая боль", "умеренная боль" и "тяжелая боль") или визуальную описательную шкалу (10 мм линейка с метками, такими как "отсутствие боли" слева и "невообразимо сильная боль" справа), на которой пациент сам устанавливает метку на линейке в соответствии со своим восприятием интенсивности боли. Каждая шкала

имеет свои преимущества и недостатки; однако большинство шкал для измерения интенсивности боли, основанных на собственных сообщениях пациентов, являются очень похожими друг на друга и могут использоваться взаимозаменяемо в различных ситуациях, в особенности, когда имеются четкие инструкции и возможность для практического применения. Субъективная боль может быть охарактеризована по крайней мере четырьмя параметрами: интенсивность боли, болевой аффект, облегчение боли и качество боли [Jensen, M.P., et al.: Chapman C.R., Foley K.M. Current and Emerging Issues in Cancer Pain. Research and Practice. New York, NY, Raven Press, 1993, p. 193-218]. Интенсивность боли отражает степень страдания человека и является наиболее важным параметром боли, особенно с целью описания настоящего изобретения.

Для пациента оценка интенсивности боли является важной задачей. Пациенты обычно склонны относительно быстро оценивать интенсивность боли, а полученные измерения интенсивности боли статистически приближаются одно к другому. Следовательно, интенсивность боли может рассматриваться как относительно гомогенная величина, которая сравнительно легко оценивается большинством людей. Три основных наиболее часто применяемых метода для оценки интенсивности боли включают вербальную рейтинговую шкалу, визуальную аналоговую шкалу (ВАШ) и числовую рейтинговую шкалу. Реже применяются такие методы, как оценочная шкала поведения, шкала "picture", шкала "box" и описательная дифференциальная н-шкала [Jensen, M.P., et al.: Chapman C.R., Foley K.M. Current and Emerging Issues in Cancer Pain. Research and Practice. New York, NY, Raven Press, 1993, p. 193-218].

Визуальные аналоговые шкалы являются, вероятно, наиболее часто используемым инструментом для оценки интенсивности боли в исследованиях исходов, связанных с проводимой терапией. ВАШ представляют собой линейку длиной обычно 10 см, чьи границы обозначают крайние степени боли (например, от метки "отсутствие боли" до метки "худшая боль, какую можно себе представить"). Если ВАШ имеет специфические отметки на протяжении линейки, которые обозначены соответствующими прилагательными или числами, выражающими интенсивность боли, то она обозначается как графическая рейтинговая шкала интенсивности боли. Пациентов просто просят отметить, какая метка на линейке лучше отражает интенсивность их боли. Обычно врач разрешает пациенту предварительно попрактиковаться, чтобы убедиться, что задание ему понятно. Расстояние от отметки "отсутствие боли" до отметки, выбранной пациентом, и является баллом, отражающим интенсивность боли у пациента. Существует множество доказательств, подтверждающих достоверность ВАШ для измерения интенсивности боли. ВАШ напрямую коррелируют с другими способами измерения боли, основанных на собственных сообщениях пациентов, а также с наблюдаемым врачами болевым поведением [см. Jensen, 1993 и ссылки, представленные в настоящем описании]. Поскольку ВАШ обычно измеряются в миллиметрах, они имеют большое количество категорий ответа, т.е. шкала может иметь, например, 101 балл, что делает ее потенциально более чувствительной к изменениям интенсивности боли, по сравнению со шкалами с ограниченным числом категорий ответов. Исследования показывают, что ВАШ для измерения интенсивности боли обычно (но не всегда) является более чувствительной для измерения интенсивности боли в ответ на лечение, чем 4- или 5-балльная вербальная рейтинговая шкала.

Многомерные инструменты для оценки боли (также иногда обозначаемые как опросники для оценки боли) позволяют провести клиническую оценку боли, включающую ее сенсорный, аффективный и другие количественные компоненты, что превосходит основные измерения интенсивности боли. Теоретически многомерные инструменты должны быть более надежными и, следовательно, потенциально более чувствительными для отслеживания изменений боли, ассоциированных со временем или лечением; однако они являются более сложными и требуют большего времени на выполнение, чем одномерные инструменты. Кроме того, поскольку многомерные инструменты для оценки боли или качества жизни (QOL, Quality of Life) были созданы главным образом для оценки изменений QOL, связанных с состоянием здоровья, в условиях клинических исследований, результаты измерений являются только информативными при использовании в сравнительных условиях, т.е. при сравнении субпопуляций пациентов, и, следовательно, единичный индивидуальный результат не является информативным. Примерами основных многомерных инструментов для оценки боли или качества жизни (QOL), которые используются при оценке раковой боли, являются опросник EORTC QLQ C-30, разработанный Европейской организацией исследования и лечения рака; краткий опросник оценки боли (BPI, Brief Pain Inventory) и опросник McGill.

Что касается рака поджелудочной железы, в частности, мультимерный инструмент EORTC является, пожалуй, наиболее приемлемым, хотя это еще требует доказательств на практике. EORTC QLQ C-30 представляет собой анкету, самостоятельно заполняемую пациентом и включающую 30 вопросов, разработанную для оценки качества жизни у раковых пациентов [Aaronson, N.K. et al., J. Natl. Cancer Inst. 85(5): 365-76, 1993]. Важно, что она снабжена модулями, специфичными для различных заболеваний, включая модуль, специально разработанный для рака поджелудочной железы (QLQ-PAN26), который включает 26 вопросов, касающихся симптомов заболевания, побочных эффектов от лечения и эмоциональной оценки. Опросник QLQ C-30 был утвержден, однако модуль QLQ-PAN26 до настоящего времени официально не утвержден и требует проведения психометрической проверки на большой интернациональной субпопуляции пациентов.

В целом, дополнительная сложность и нагрузка на пациентов, ассоциированная с использованием многомерных инструментов, является преимуществом, когда целью является измерение интенсивности раковой боли или классификация пациентов по этому параметру. Таким образом, одномерные инструменты остаются наиболее подходящим выбором для оценки боли, доступным для описания боли в соответствии с настоящим изобретением.

Определение профиля генной экспрессии и идентификация субпопуляций пациентов для лечения.

Изменения в геноме, приводящие к различным хромосомным aberrациям, являются характерными для злокачественных заболеваний. Помимо генных мутаций, опухолевый рост также поддерживается измененным уровнем экспрессии генов. Определение профиля экспрессии генов представляет собой измерение экспрессии (т.е. активности) тысячи генов одновременно для получения глобальной картины клеточной функции или генетического "фингерпринта" определенного физиологического/патологического образца. В случае рака определение профиля экспрессии используется для более точной классификации опухолей; кроме того, сравнение профилей экспрессии позволяет идентифицировать субпопуляции пациентов, у которых определенные гены постоянно подвергаются повышающей регуляции или понижающей регуляции. Следовательно, информация, полученная в результате определения профиля экспрессии, позволяет поставить объективный диагноз, идентифицировать гены, коррелирующие с выживаемостью, оценить риск развития предраковых изменений и предсказать ответ на определенное лечение. Это означает, что врач, зная генетический "фингерпринт" пациента, может ответить на вопросы прямой клинической значимости, такие как возможность пациента отвечать на определенное лекарственное средство.

Рак поджелудочной железы.

Поджелудочная железа содержит экзокринные клетки (вовлеченные в продукцию ферментов, необходимых для переваривания пищи) и эндокринные клетки (которые продуцируют гормоны, например, инсулин). Как экзокринные, так и эндокринные клетки способны образовать опухоль, но опухоли, сформированные экзокринными клетками, значительно более широко распространены и имеют плохой прогноз. Наибольшее число опухолей, образованных экзокринными клетками, составляют аденокарциномы. Опухоли, образованные эндокринными клетками (также называемыми островковыми клетками), значительно менее широко распространены и большей частью являются доброкачественными по своей природе.

Злокачественная опухоль поджелудочной железы, образованная экзокринными клетками (далее называемая здесь раком поджелудочной железы), представляет собой заболевание, создающее серьезную угрозу жизни, и в большинстве случаев начальные стадии заболевания проходят бессимптомно и менее 20% таких опухолей поддаются хирургическому лечению. По статистике только 20% больных, подвергшихся резекции опухоли, выживают в течение 5 последующих лет. Ранняя диагностика рака поджелудочной железы затруднена из-за того, что симптомы заболевания разнообразны и являются неспецифическими. В первую очередь симптомы обусловлены нарастанием массы опухоли, а не нарушением экзокринной или эндокринной функций и зависят от размера и локализации опухоли, равно как и от наличия метастазов. Раковые опухоли, первоначально развивающиеся в головке поджелудочной железы, находятся вблизи общего желчного протока. Такие опухоли могут сдавливать проток, будучи еще незначительными по размеру, что способно привести к желтухе и позволить этим опухолям быть обнаруженными на ранней стадии. Раковые опухоли, первоначально развивающиеся в теле или хвосте поджелудочной железы, не сдавливают проток до тех пор, пока не прорастут в поджелудочную железу. К этому времени опухоль может распространиться и за пределы поджелудочной железы, часто в печень, что также приводит к желтухе. Все симптомы, обычно ассоциированные с раком поджелудочной железы, могут иметь многочисленные другие причины, мешая постановке диагноза, и, как следствие этого, рак поджелудочной железы обычно диагностируется на продвинутой стадии. Более того, инвазивный и метастазирующий рак поджелудочной железы плохо отвечает на существующие химио- и радиотерапевтические методы лечения, и, отличаясь высокими уровнями углеводного антигена 19-9 (CA 19-9) и статусом >2 Западной Объединенной Онкологической Группы (ECOG), ассоциируется также с неблагоприятным прогнозом. Уровень смертности остается упорно высоким в последние несколько деkad, и пациенты, получающие стандартное лечение, имеют среднее время выживания после постановки диагноза около 3-6 месяцев и 9-12 месяцев при наличии метастатического и местного поражения тканей.

Лечение аденокарциномы поджелудочной железы.

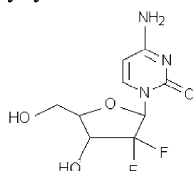
Лечение рака поджелудочной железы зависит от стадии рака, как описано в табл. 1. Когда опухоль ограничена тканями поджелудочной железы и четко отделяется от окружающих кровеносных сосудов (т.е. является локальной и операбельной), методом выбора является хирургическое лечение с послеоперационной химиотерапией и/или радиацией. Когда опухоль затрагивает или сдавливает окружающие кровеносные сосуды или проникает в прилежащие структуры (т.е. является местно распространенной и неоперабельной), предлагается химиотерапия и/или облучение. В редких случаях, когда пациент хорошо отвечает на лечение, на последующем этапе опухоль может быть удалена хирургическим путем. Когда опухоль распространяется в отдаленные органы (т.е. метастазирует), предлагается химиотерапия. В большинстве случаев все указанные способы не приводят к полному выздоровлению.

Таблица 1

## Стадии и лечение рака поджелудочной железы

Стадия	Описание	Количество случаев рака поджелудочной железы	Варианты лечения	Медиана выживаемости
Локальная и операбельная	Заболевание ограничено поджелудочной железой и легко отделяется от окружающих кровеносных сосудов	15%	Хирургическое; послеоперационная химиотерапия и/или облучение также могут быть предложены	11-18 месяцев
Местно-распространенная или неоперабельная	Опухоль затрагивает или сдавливает окружающие кровеносные сосуды или напрямую проникает в прилежащие структуры	40%	Химиотерапия (главным образом на основе гемцитабина) и/или облучение. В очень редких случаях, опухоли, хорошо отвечающие на первоначальное лечение впоследствии, могут быть удалены хирургически.	10-12 месяцев
Метастазирующая	Признаки распространения за пределы поджелудочной железы в отдаленные органы (печень, легкие и т.д.)	45%	Химиотерапия (главным образом на основе гемцитабина); экспериментальные способы	5-7 месяцев

Химиотерапия может применяться у пациентов с распространенным неоперабельным раком (местно распространенным или метастатическим), а также у пациентов с локальным заболеванием после хирургического лечения или даже в качестве неадьювантного лечения для уменьшения объема опухоли перед хирургическим лечением. На протяжении десятилетий наиболее часто применяемым химиотерапевтическим агентом для лечения метастатического рака поджелудочной железы был 5-фторурацил (5-FU) до тех пор, пока в рандомизированном клиническом исследовании не было показано, что увеличение продолжительности жизни и улучшение клинической картины наступает быстрее и эффективнее при использовании гемцитабина (Gemzar®, Lilly France), чем 5-фторурацила. Гемцитабин, нуклеозидный аналог цитидина, в настоящее время утвержден как стандартный препарат для системного лечения пациентов с местно распространенным, неоперабельным или метастатическим раком поджелудочной железы. Однако эффективность гемцитабина как монопрепарата остается невысокой, со средним временем выживания пациентов приблизительно 6 месяцев и 12 месяцев приблизительно у 20% пациентов, что было показано в рандомизированных клинических исследованиях. Антиметаболит гемцитабин [CAS номер 95058-81-4; (4-амино-1-[3,3-дифтор-4-гидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил]-1Н-пиримидин-2-он) замещает цитидин во время репликации ДНК, что приводит к апоптозу раковых клеток. Гемцитабин имеет следующую формулу:



К настоящему времени во многих клинических исследованиях изучался эффект комбинированного лечения гемцитабина с цитотоксическими агентами и/или биологическими соединениями, направленными на определенную мишень, однако результаты практической терапии всегда оказывались разочаровывающими, показывая отсутствие преимуществ комбинированной терапии по сравнению с монотерапией гемцитабином. Причины развития рака поджелудочной железы не понятны, но различия между раковыми клетками и нормальными клетками очевидны, поэтому новые лекарственные средства пытаются использовать указанные различия и воздействовать целенаправленно на специфические мишени. Следовательно, в настоящее время внимание исследователей направлено на изучение роли факторов роста. Во время

прогрессирования рака поджелудочной железы несколько факторов роста и их рецепторы подвергаются сверхэкспрессии, в частности эпителиальный фактор роста (EGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор роста фибробластов (FGF) и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). Дерегулированная экспрессия цитоплазматических тирозинкиназ также ассоциируется с плохим прогнозом и устойчивостью к химиотерапии. В частности, устойчивость к гемцитабину при раке поджелудочной железы чаще всего ассоциирована с высоким уровнем экспрессии киназы фокальной адгезии (ФАК), белка, участвующего в метастазировании; также известно, что повышенная экспрессия и активность киназ из семейства Src (SFK), включая SRC и Lyn, характерны для целого ряда опухолевых клеток и тканей человека. Кроме того, существуют доказательства, что рекрутинг воспалительных клеток, включая инфильтрацию тучными клетками, усиливает рост и распространение рака посредством продукции молекул, увеличивающих опухолевую инвазивность.

Эпидермальный фактор роста (EGFR) является мишенью нескольких лекарственных средств, находящихся в стадии разработки, включая эрлотиниб (Tarceva®), сочетание которого с гемцитабином было одобрено в качестве терапии первой линии у пациентов с неоперабельным раком поджелудочной железы. Указанная комбинация, как было показано в клинических исследованиях, незначительно увеличивает время выживания пациентов, со средней OS (общей выживаемостью) приблизительно 6,24 месяца, что на 2 недели больше, чем при монотерапии гемцитабином (5,91 месяц); и уровнем 1-летней выживаемости около 23% (17% для монотерапии гемцитабином;  $p=0,023$ ) [Moore M.J., et al., J. Clin. Oncol. 20.05.2007, 25(15):1960-6].

Для определения эффективности и безопасности режима химиотерапии, включающего комбинацию из четырех лекарственных средств (FOLFIRINOX) (включая лейковорин кальций, фторурацил, иринотекан гидрохлорид и оксалиплатин) и сравнения его с монотерапией гемцитабином как терапией первой линии у пациентов с метастатическим раком поджелудочной железы, было проведено мультицентровое рандомизированное клиническое исследование 2-3 фазы [Conroy T, et al., N Engl J Med. 12.05.2011, 364(19): 1817-25]. Каждое из указанных лекарств из данной комбинации было одобрено FDA для лечения рака или патологических состояний, ассоциированных с раком. Пациенты, получавшие лечение Folfirinox, прожили приблизительно на 4 месяца дольше, чем пациенты, получавшие стандартное лечение для настоящего времени, гемцитабин (11,1 месяцев против 6,8 месяцев). Частота объективных ответов составляла 31,6% у пациентов, получавших Folfirinox, против 9,4% у пациентов, получавших гемцитабин. В целом режим Folfirinox приводил к увеличению выживаемости, однако был ассоциирован со значительно повышенной токсичностью. Кроме того, существует целый ряд возможных популяционных погрешностей, учитывая дизайн исследования, а также возможные смешиваемые эффекты, поскольку исследование не было слепым. Например, согласно плану исследования были отобраны только пациенты с хорошим общим состоянием (баллы по ECOG от 0 до 1), а по причине повышенного риска развития иринотекан-индуцированной токсичности пациенты с высоким уровнем билирубина (что обычно манифестирует как желтуха и является стандартным симптомом у пациентов с раком головки поджелудочной железы) были исключены из исследования. Наличие указанных организационных ограничений, а также высокий уровень токсичности Folfirinox по сравнению с гемцитабином мешает эффективному использованию режима Folfirinox у значительного числа пациентов с раком поджелудочной железы, включая пациентов с плохим прогнозом, которые просто не могут выдержать указанный режим. Соответственно, Folfirinox подходит как вариант лечения первой линии для пациентов с метастатическим раком поджелудочной железы моложе 76 лет, с хорошим общим состоянием, отсутствием ишемической болезни сердца и нормальным (или близким к норме) уровнем билирубина.

Маситиниб *in vitro* (ре)сенситизирует раковые клетки поджелудочной железы к гемцитабину.

Авторы изобретения обнаружили, что комбинация маситиниба и гемцитабина (Gemzar®, Eli Lilly and Company), нуклеозидного аналога, ингибирует рост аденокарциномы поджелудочной железы человека. Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что маситиниб:

повышает чувствительность различных раковых клеточных линий к гемцитабину [Thamm D.H., et al. The Veterinary Journal, 2011, 10:1016];

повышает чувствительность гемцитабин-устойчивых клеточных линий рака поджелудочных желез [Humbert M., et al., 2010, PLOS ONE, 5(3):9430, 10.1371/0009430];

демонстрирует антипролиферативную активность комбинации гемцитабин плюс маситиниб на мышинной модели Nog-SCID рака поджелудочной железы [Humbert M., et al., 2010, PLOS ONE, 5(3):9430, 10.1371/0009430].

Полученные результаты поддерживают гипотезу, что маситиниб может усиливать антипролиферативную активность гемцитабина *in vivo*, возможно, за счет химиосенсибилизации. Эта теория также была дополнительно подтверждена результатами исследования 2 фазы на людях, в котором пациенты с распространенным раком поджелудочной железы, получавшие комбинацию маситиниба (9 мг/кг/день) с гемцитабином, демонстрировали улучшенное среднее время выживания по сравнению с пациентами, получавшими только гемцитабин, для целой популяции [Mitry E., et al., 2010. Cancer Chemotherapy and Pharmacology 66, 395].

### Цели изобретения

Настоящее изобретение имеет своей целью решить проблему создания нового активного ингредиента для лечения рака.

Настоящее изобретение также имеет своей целью решить проблему создания нового активного ингредиента, улучшающего известные из области техники способы лечения рака.

Изобретение имеет своей целью предложить эффективный способ лечения рака в подходящей дозе, с подходящим способом введения и суточным режимом.

Изобретение имеет своей целью решить проблему, каким образом можно прогнозировать терапевтический ответ на указанное лечение у конкретного пациента и, следовательно, установить соответствующую субпопуляцию пациентов на основании указанных прогностических факторов.

Один из таких прогностических факторов основан на определении клинического маркера интенсивности боли. Следовательно, изобретение имеет своей целью решить проблему создания активного ингредиента, улучшающего известные из области техники способы лечения рака, и предназначенного для лечения рака, ассоциированного с выраженным болевым синдромом, требующим применения опиоидных анальгетиков для купирования указанного болевого синдрома.

Несмотря на попытки разработать комбинированные режимы химиотерапии на основе гемцитабина, рак поджелудочной железы остается устойчивым к химиотерапии и представляет собой крайне агрессивную опухоль. Лечение распространенного рака поджелудочной железы остается большой проблемой, особенно, что касается паллиативного эффекта химиотерапии на симптомы, относящиеся к заболеванию, и время выживания. Режим Folfirinox представляет собой альтернативную основу для разработки комбинированной терапии, но его высокая токсичность, вероятно, будет ограничивать его использование у большинства пациентов. Плохой прогноз и недостаток эффективных способов лечения рака поджелудочной железы, в особенности рака поджелудочной железы, ассоциированного с выраженным болевым синдромом, придают большое значение медицинской проблеме поиска новых более эффективных терапевтических стратегий, которые позволят улучшить общее состояние пациентов, страдающих от рака поджелудочной железы, без существенного увеличения токсичности. Учитывая ограниченную среднюю продолжительность жизни пациентов, страдающих от рака поджелудочной железы, наиболее важными целями лечения является увеличение как времени выживания пациентов, так и качества их жизни. Кроме того, наиболее важным является создание способа лечения, способного одновременно улучшать оба указанных показателя.

Таким образом, настоящее изобретение имеет своей целью решить проблему создания активного ингредиента, улучшающего известные из области техники способы лечения рака и предназначенного для лечения распространенной аденокарциномы поджелудочной железы.

Изобретение также имеет своей целью решить проблему создания активного ингредиента, улучшающего известные из области техники способы лечения рака и предназначенного для лечения распространенной аденокарциномы поджелудочной железы, ассоциированного с выраженным болевым синдромом, требующим применения опиоидных анальгетиков для купирования указанного болевого синдрома.

### Краткое описание изобретения

Настоящее изобретение относится к способу лечения рака у человека, при этом указанный способ включает введение пациенту, нуждающемуся в подобном лечении, ингибитора тирозинкиназы, ингибитора тучных клеток или с-Kit ингибитора, в частности маситиниба или его фармацевтически приемлемой соли, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом.

Под термином "противоопухолевый агент", используемым в настоящем описании, понимается лекарственное средство для лечения рака. Например, к ним относятся соединения, описанные в следующих источниках: Актуальная Фармакология, 302 (1992), с. 38-39 и 41-43; или в Перечне лекарственных средств, одобренных для лечения онкологических заболеваний Американским Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (USFDA); или в Перечне противоопухолевых и других опасных лекарственных средств для медицинских учреждений Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH) (2012-15); и соединения, выбранные из группы, включающей алкилирующий агент, антимитотический агент, антиметаболический агент, агент против топоизомеразы I, аналог платины, антибиотик, гормональный агент, антиангиогенный агент, генотоксический агент, цитотоксический агент, биологический агент или дополнительный ингибитор тирозинкиназы.

В частности, к указанным противоопухолевым агентам относятся, без ограничений указанными, абареликс, абиратерона ацетат, альдеслейкин, альтретамин, анастрозол, триоксид мышьяка, аспарагиназа, акитиниб, азациитидин, бендамустина гидрохлорид, бевацизумаб, бексаротен, бикалутамид, леоминин, бортезомиб, брентуксимаб ведотин, бусульфид, кабазитаксел, Кэмпас (Campath), камптосар, капецитабин, карбоплатин, карфилзомаб, кармустин, цетуксимаб, хлорамбуцил, цисплатин, кладрибин (2CDA), клофарабин, кризотиниб, циклофосфамид, цитарабин (ARA-C), цитозина арабинозид, декарбазин, дактиномицин, дезатиниб, даунорубицин, децитиниб, дегареликс, денилейкин, доцетаксел, доксорубицин, эпирубицин, эрибулин мезилат, эрлотиниб, эстрамустина фосфат, этопозид, эверолимус, экземестан, флоксуридин, флударабин, фтор-5-урацил (5-фторурацил), фторуридин-дезоксирибоза, флутамид, фул-



вестрант, гефитиниб, гемцитабин, гемтузумаб озогамин, гидроксимочевина, ибритумомаб тиуксетан, идарубицин, ифосфамид, иматиниб, ипилимумаб, иринотекан, иксабепилон, лапатиниб, летрозол, лейковорин, лейпролид ацетат, ломустин, мехлорэтамин, мегестрол, мелфалан, меркаптопурин, метотрексат, митомицин, митотан, митоксантрон, неларабин, nilотиниб, nilутамид, нолвадекс, офатумумаб, оксалиплатин, паклитаксель, панитумумаб, пазопаниб, пэгаспаргаза, пэгинтерферон, альфа-2b, пеметрексед, пентостатин, пертузумаб, плериксафор, пралатрексад, прокарбазин, пролейкин, ромидеписин, сапатитабин, сипулейсел-Т, сорафениб, стрептозоцин, сунитиниб, тамоксифен, темозоломид, темсиролиму, те-нипозид, тестолактон, тезацитабин, тиогуанин, тиотеп, топотекан, торемифена цитрат, трастузумаб, трипторелин, троксацитабин, валрубицин, валстар, вандетаниб, вемурафениб, винбластин, винкристина сульфат, винорелбин, висмодегид, вориностат, кселода, зив-афлиберцепт, золедроновая кислота, FOLFOX (оксалиплатин+5-фторурацил + фолиновая кислота), FOLFIRI (иринотекан+5-фторурацил + фолиновая кислота), FOLFIRINOX (оксалиплатин + иринотекан+5-фторурацил + фолиновая кислота), а также любые комбинации перечисленных агентов.

Под термином "лечение рака" понимается, что пациенты нуждаются в лечении следующих типов рака, без ограничений указанными: острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), острый миелогенный лейкоз (AML), аденокарцинома, рак анального канала, В-клеточная лимфома, базальноклеточная карцинома, рак желчных протоков, рак мочевого пузыря, рак костей, глиома ствола мозга, опухоли мозга, рак молочной железы, рак цервикального канала, хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), хронический миелогенный лейкоз (CML), колоректальный рак (CRC), рак эндометрия, рак пищевода, рак глаза, рак желчного пузыря, рак желудка, стромальные опухоли ЖКТ (GIST), мультиформная глиобластома (GBM), волосатоклеточный лейкоз, рак головы и шеи, рак сердца, гепатоцеллюлярная (печеночная) карцинома (HCC), лимфома Ходжкина и неходжкинские лимфомы, саркома Капоши, рак гортани, мастоцитоз, меланома, миелофиброз, миелодиспластический синдром (MDS), множественная миелома, немелкоклеточная карцинома легких (NSCLC), рак легких (мелкоклеточный), меланома, назофарингеальная карцинома, нейроэндокринные опухоли, нейробластома, рак ротовой полости, орофарингеальный рак, рак яичников, рак поджелудочной железы, рак параназальных синусов и носовой полости, паратиреоидный рак, рак пениса, фарингеальный рак, аденома гипофиза, рак предстательной железы, рак прямой кишки, почечноклеточная карцинома (RCC), рак слюнных желез, рак кожи (немеланомный), рак тонкого кишечника, мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома (SLL), саркома мягких тканей, плоскоклеточная карцинома, Т-клеточная лимфома, рак яичек, рак глотки, рак щитовидной железы, рак молочной железы с тройным негативным фенотипом, рак мочеиспускательного канала и рак матки.

Согласно одному варианту своего осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при котором ингибитор тирозинкиназы или ингибитор тучных клеток представляет собой ингибитор киназной активности тирозинкиназ, выбранных из группы: c-Kit, PDGFR, Lyn, Fyn и DDR1.

Согласно другому варианту осуществления изобретения ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток или c-Kit ингибитор представляют собой маситиниб или его фармацевтически приемлемую соль, в частности соль мезилата.

Под термином "прогностический фактор" или "биомаркер" понимается одна характеристика или группа характеристик, которые оцениваются как индикаторы нормальных биологических процессов, патогенных процессов или фармакологических ответов на терапевтическое вмешательство. В отношении настоящего изобретения термин "прогностический фактор" или "биомаркер" относится также к показателям, предикативному биомаркеру, прогностическому биомаркеру, молекулярному маркеру, генетическому маркеру, набору прогностических генов, генетическому фингерпринту, транскрипционному фингерпринту, генетическому принту, генетической сигнатуре, опухолевому маркеру, раковому маркеру, биологическому маркеру, биохимическому маркеру и биологическому индикатору.

Согласно одному из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при этом указанный пациент изначально отобран для лечения на основе прогностического фактора или интенсивности боли.

Таким образом, согласно одному из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения рака, ассоциированного с болевым синдромом, требующим применения опиоидных анальгетиков, для купирования указанного болевого синдрома, у человека, при этом ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток или c-Kit ингибитор, в частности маситиниб или его фармацевтически приемлемая соль, вводятся пациенту, нуждающемуся в подобном лечении, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом.

Согласно другому варианту настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при этом указанный пациент страдает от рака, ассоциированного с болевым синдромом или требующим применения опиоидных анальгетиков, для облегчения указанного болевого синдрома, и при этом наличие "боли" определяется, когда пациент сообщает хотя бы об одном случае присутствия боли ненулевой интенсивности, что определяется при помощи подходящего инструмента для оценки интенсивности боли. Таким образом, подразумевается, что при наличии такого прогностического фактора, как интенсивность боли, и отсутствии любого другого независимого прогностического фактора заявленное лечение

пациента, страдающего от рака, не ассоциированного с выраженным болевым синдромом или не требующего применения опиоидных анальгетиков для купирования такого болевого синдрома, является нецелесообразным.

Согласно еще одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при этом указанные пациенты страдают от рака поджелудочной железы, ассоциированного с выраженным болевым синдромом или требующего применения опиоидных анальгетиков для купирования указанного болевого синдрома, и при этом наличие "боли" определяется, как определено выше, при помощи подходящего инструмента для оценки интенсивности боли, включая, без ограничений указанными, вербальную рейтинговую шкалу, визуальную аналоговую шкалу, числовую рейтинговую шкалу, рейтинговую шкалу оценки поведения, шкалу "picture", шкалу "box", описательную дифференциальную н-шкалу, опросник для пациентов с раком поджелудочной железы EORTC QLQ-PAN26, разработанный Европейской организацией исследования и лечения рака; краткий опросник оценки боли (BPI) и опросник McGill.

Согласно еще одному варианту настоящего изобретение относится к способу, как определено выше, при этом указанные пациенты страдают от рака поджелудочной железы, ассоциированного с выраженным болевым синдромом или требующего применения опиоидных анальгетиков для купирования указанного болевого синдрома, при этом наличие "боли" определяется, когда пациент сообщает хотя бы об одном случае присутствия боли с интенсивностью более 5, что определяется при помощи визуальной аналоговой шкалы (ВАШ, например ВАШ >5 мм при измерении на 100 мм линейке, 5%); или балл интенсивности боли согласно ВАШ составляет больше 10 (например, ВАШ >10 мм при измерении на 100 мм линейке, или 10%) или даже балл интенсивности боли согласно ВАШ составляет больше 20 (например, ВАШ >20 мм при измерении на 100 мм линейке, или 20%).

Согласно еще одному варианту настоящего изобретение относится к способу, как определено выше, при этом указанные пациенты страдают от рака поджелудочной железы, ассоциированного с выраженным болевым синдромом или требующего применения опиоидных анальгетиков для купирования указанного болевого синдрома, при этом наличие "боли" определяется по наличию хотя бы одного сообщения пациента о наличии эквивалентного измерения интенсивности боли за пределами порогового, при помощи ВАШ; или по наличию хотя бы одного сообщения пациента о наличии умеренной или невыносимой боли, интенсивность которой была измерена при помощи мультимерного или категориального инструмента для оценки интенсивности боли.

Согласно еще одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при этом указанные пациенты страдают от рака поджелудочной железы, ассоциированного с выраженным болевым синдромом или требующего применения опиоидных анальгетиков для купирования указанного болевого синдрома, при этом наличие "боли" определяется по наличию хотя бы одного сообщения пациента о наличии боли с интенсивностью более 20 по ВАШ (например, ВАШ >20 мм при измерении на 100 мм линейке, или 20%).

Согласно еще одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при этом маситиниб вводится в суточной дозе от 4,5 до 12,0 мг/кг в день, при этом предпочтительная стартовая суточная доза для пациентов с раком составляет от 6,0 до 7,5 мг/кг в день.

Согласно еще одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при этом доза маситиниба увеличивается с шагом 1,5 мг/кг в день до достижения максимальной дозы, составляющей 12 мг/кг в день.

Согласно другому варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при котором ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток или c-Kit ингибитор, в частности маситиниб или его фармацевтически приемлемая соль, вводятся перорально.

Согласно еще одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при котором ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток или c-Kit ингибитор, в частности маситиниб или его фармацевтически приемлемая соль, вводятся дважды в день.

Согласно еще одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, включающему продолжительное введение эффективного количества указанного ингибитора тирозинкиназы, ингибитора тучных клеток или c-Kit ингибитора, в частности маситиниба или его фармацевтически приемлемой соли; лечение продолжается более 3 месяцев.

Согласно еще одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при котором ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток или c-Kit ингибитор, в частности маситиниб или его фармацевтически приемлемая соль, вводятся в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом, в неоадьювантном, адьювантном, сопутствующем или одновременном режимах.

Согласно еще одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при котором ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток или c-Kit ингибитор, в частности маситиниб или его фармацевтически приемлемая соль, и по крайней мере один противоопухолевый агент вводятся отдельно, одновременно или последовательно.

Согласно еще одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как

определено выше, для лечения рака поджелудочной железы, при котором указанный ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток или с-Kit ингибитор вводятся в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом, выбранным из зарегистрированных на рынке лекарственных средств для лечения рака.

Согласно еще одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при этом указанный пациент страдает от неоперабельной аденокарциномы поджелудочной железы или метастатической аденокарциномы поджелудочной железы.

Согласно другому варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при этом указанный пациент, страдающий указанной формой рака поджелудочной железы, нуждается в лечении, что определяется на основании прогностических факторов генной экспрессии или прогностического фактора интенсивности боли; а указанный по крайней мере один противоопухолевый агент выбран из группы включающей гемцитабин (Gemzar®; Lilly), эрлотиниб (Tarceva®; Roche); паклитаксел (Taxol®, Abraxane®, Bristol-Myers Squibb), Folfirinox, 5-фторурацил (5-FU), капецитабин, цисплатин, оксалиплатин, иринотекан, лейковорин и любую комбинацию указанных агентов.

Согласно еще одному варианту осуществления изобретения указанным противоопухолевым агентом является гемцитабин.

Согласно другому варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при котором используется продукт, содержащий гемцитабин и маситиниб или их фармацевтически приемлемые соли или гидраты.

Согласно еще одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при котором маситиниб вводится ежедневно в стартовой дозе  $6,0 \pm 1,5$  мг/кг в день с максимальной разрешенной дозой 9,0 мг/кг в день, а гемцитабин вводится сначала в стартовом режиме в недельной дозе  $1000 \pm 250$  мг/м<sup>2</sup> поверхности тела пациента в течение почти семи последовательных недель, после чего следует перерыв в одну неделю, после которого лечение возобновляют в недельной дозе  $1000 \pm 250$  мг/м<sup>2</sup> на три недели и повторяют каждые 28 дней.

Согласно еще одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к ингибитору тирозинкиназы, ингибитору тучных клеток или с-Kit ингибитору, предназначенным для использования согласно способу лечения рака, как определено выше, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом.

Согласно еще одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции или набору, включающему ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток и с-Kit ингибитор, предназначенным для использования согласно способу лечения рака, как определено выше, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом.

Согласно другому варианту осуществления настоящее изобретение относится к использованию ингибитора тирозинкиназы, ингибитора тучных клеток или с-Kit ингибитора для получения лекарственного средства или фармацевтической композиции для лечения рака, как определено выше, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом.

Согласно другому аспекту, настоящее изобретение относится к способу лечения рака, в частности рака поджелудочной железы, у человека, а также идентификации пациентов, подлежащих лечению, на основании определения прогностического фактора интенсивности боли; при этом указанный способ включает следующие этапы:

а) устанавливают, страдает ли пациент от рака, ассоциированного с болевым синдромом и требующего введения по крайней мере одного опиоидного анальгетика для купирования указанного болевого синдрома, ассоциированного с заболеванием; при этом интенсивность боли предпочтительно определяется, когда пациент сообщает хотя бы об одном случае присутствия боли с интенсивностью более 5, что определяется при помощи визуальной аналоговой шкалы при измерении на 100 мм линейке; и, необязательно

б) устанавливают, является ли интенсивность боли, ассоциированной с указанным заболеванием и выраженной посредством визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) на 100 мм линейке, выше, чем предопределенная величина для указанного типа рака; и, в частности, что касается рака поджелудочной железы, является ли интенсивность боли по ВАШ выше 20 мм при измерении на 100 мм линейке.

Согласно одному из вариантов осуществления изобретения указанная предопределенная величина для боли, ассоциированной с заболеванием, составляет 20 мм при измерении на 100 мм линейке.

Согласно одному из вариантов осуществления изобретения упомянутый выше способ лечения болевого синдрома применяется у пациентов, страдающих раком поджелудочной железы, при этом, если результат этапа (а) является отрицательным, пациенту назначают лечение по крайней мере одним нуклеозидным аналогом, в частности аналогом цитидина, а именно гемцитабином. Если результат этапа (а) является положительным, а результат этапа (б) - отрицательным, пациенту назначают лечение по крайней мере одним лекарственным средством, направленным против рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), в частности эрлотинибом, в комбинации по крайней мере с одним нуклеозидным аналогом, в частности аналогом цитидина, а именно гемцитабином; или по крайней мере одним ингибитором

митоза, в частности паклитакселом, в комбинации по крайней мере с одним нуклеозидным аналогом, в частности аналогом цитидина, а именно гемцитабином; или назначают по крайней мере одну комбинацию указанных лекарственных средств: фторурацил, лейковорин, иринотекан или оксалиплатин и, в частности, Folfirinox. Если результат этапа (а) является положительным и результат этапа (б) также является положительным, тогда пациенту назначают лечение по крайней мере одним ингибитором тирозинкиназы, ингибитором тучных клеток или с-Kit ингибитором, в частности маситинибом, возможно, в комбинации по крайней мере с одним нуклеозидным аналогом, в частности аналогом цитидина, а именно гемцитабином.

Согласно одному из вариантов осуществления изобретения упомянутый выше способ лечения болевого синдрома применяется у пациентов, страдающих от другого типа рака (не поджелудочной железы), при этом, если результат этапа (а) является отрицательным, пациенту назначают лечение по крайней мере одним противоопухолевым агентом. Если результат этапа (а) является положительным, а результат этапа (б) - отрицательным, пациенту назначают лечение по крайней мере одним противоопухолевым агентом. Если результат этапа (а) является положительным и результат этапа (б) также является положительным, тогда пациенту назначают лечение по крайней мере одним ингибитором тирозинкиназы, ингибитором тучных клеток или с-Kit ингибитором, в частности маситинибом, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом.

Согласно другому аспекту, настоящее изобретение относится к способу лечения рака, в частности рака поджелудочной железы у человека, при этом указанный способ включает идентификацию пациентов, подлежащих лечению, на основании последовательного определения генной экспрессии и интенсивности боли. Таким образом, в указанном способе при определении интенсивности боли, упомянутом выше, этап (а) может быть дополнен этапом (а'), включающим идентификацию пациентов, имеющих по крайней мере один прогностический фактор генной экспрессии, как описано выше.

Согласно одному из вариантов осуществления изобретения способ лечения, упомянутый выше, применяется в отношении рака поджелудочной железы; при этом, если результат этапа (а') является положительным, пациенту назначают лечение по крайней мере одним ингибитором тирозинкиназы, ингибитором тучных клеток или с-Kit ингибитором, в частности маситинибом, возможно, в комбинации по крайней мере с одним нуклеозидным аналогом, в частности аналогом цитидина, а именно гемцитабином; если результат этапа (а') является отрицательным, тогда обращаются к этапу (а) по определению интенсивности боли при раке поджелудочной железы.

Указанный способ включает следующие этапы:

а) устанавливают, страдает ли пациент от рака поджелудочной железы, ассоциированного с болевым синдромом и требующего введения по крайней мере одного опиоидного анальгетика для купирования указанного болевого синдрома, ассоциированного с заболеванием; при этом интенсивность боли предпочтительно определяется, когда пациент сообщает хотя бы об одном случае присутствия боли с интенсивностью более 5, что определяется при помощи визуальной аналоговой шкалы при измерении на 100 мм линейке; и, возможно

б) устанавливают, является ли интенсивность боли, ассоциированной с указанным заболеванием и выраженной посредством визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) на 100 мм линейке, выше 20 мм.

Если результат этапа (а) является отрицательным, тогда пациенту назначают лечение по крайней мере одним нуклеозидным аналогом, в частности аналогом цитидина, а именно гемцитабином. Если результат этапа (а) является положительным, а результат этапа (б) - отрицательным, тогда пациенту назначают лечение по крайней мере одним лекарственным средством, направленным против рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), в частности эрлотинибом, в комбинации по крайней мере с одним нуклеозидным аналогом, в частности аналогом цитидина, а именно гемцитабином; или по крайней мере одним ингибитором митоза, в частности паклитакселом, в комбинации по крайней мере с одним нуклеозидным аналогом, в частности аналогом цитидина, а именно гемцитабином; или назначают по крайней мере одну комбинацию указанных лекарственных средств: фторурацил, лейковорин, иринотекан или оксалиплатин и, в частности, Folfirinox. Если результат этапа (а) является положительным и результат этапа (б) также является положительным, тогда пациенту назначают лечение по крайней мере одним ингибитором тирозинкиназы, ингибитором тучных клеток или с-Kit ингибитором, в частности маситинибом, возможно, в комбинации по крайней мере с одним нуклеозидным аналогом, в частности аналогом цитидина, а именно гемцитабином.

Согласно другому варианту осуществления изобретения способ лечения, упомянутый выше, применяется у пациентов, страдающих от другого типа рака (не поджелудочной железы); при этом, если результат этапа (а') является положительным, пациенту назначают лечение по крайней мере одним ингибитором тирозинкиназы, ингибитором тучных клеток или с-Kit ингибитором, в частности маситинибом, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом. Если результат этапа (а') является отрицательным, тогда обращаются к этапу (а) по определению интенсивности боли при раке.

Указанный способ включает следующие этапы:

а) устанавливают, страдает ли пациент от рака, ассоциированного с болевым синдромом и требующего введения по крайней мере одного опиоидного анальгетика для купирования указанного болевого

синдрома, ассоциированного с заболеванием; при этом интенсивность боли предпочтительно определяется, когда пациент сообщает хотя бы об одном случае присутствия боли с интенсивностью более 5, что определяется при помощи визуальной аналоговой шкалы при измерении на 100 мм линейке; и, необязательно

б) устанавливают, является ли интенсивность боли, ассоциированной с указанным заболеванием и выраженной посредством визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) на 100 мм линейке, выше, чем предопределенная величина для указанного типа рака.

Если результат этапа (а) является отрицательным, тогда пациенту назначают лечение по крайней мере одним противоопухолевым агентом. Если результат этапа (а) является положительным, а результат этапа (б) является отрицательным, тогда пациенту назначают лечение по крайней мере одним противоопухолевым агентом.

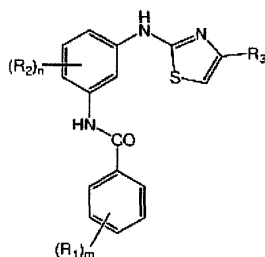
Если результат этапа (а) является положительным и результат этапа (б) также является положительным, тогда пациенту назначают лечение по крайней мере одним ингибитором тирозинкиназы, ингибитором тучных клеток или с-Kit ингибитором, в частности маситинибом, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом.

На фиг. 3 представлены способы лечения, учитывающие индивидуальные прогностические факторы интенсивности боли и экспрессии генов у пациентов с раком поджелудочной железы, при этом способ лечения учитывает оба указанных прогностических фактора.

#### Описание изобретения

Тирозинкиназы представляют собой белки рецепторного или нереперторного типа, которые переносят терминальный фосфатный остаток молекулы АТФ на тирозиновые остатки белков, что приводит к активации или инактивации путей передачи сигналов в клетках. Известно, что указанные белки участвуют во многих клеточных механизмах, которые в случае их повреждения вызывают различные нарушения, такие как аномальная клеточная пролиферация и миграция, а также воспаление. Ингибитор тирозинкиназы представляет собой лекарственное средство, которое ингибирует тирозинкиназы и нарушает процесс передачи сигнала клетками. Блокировка указанных процессов может прекращать клеточный рост и деление.

Согласно одному из вариантов осуществления изобретения заявленный ингибитор тирозинкиназы имеет следующую формулу (А):



где R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> выбраны, независимо друг от друга, из группы, включающей водород, галоген, линейный или разветвленный алкил, циклоалкильную группу, содержащую от 1 до 10 атомов углерода, трифторметил, алкокси-, циано-, диалкиламиногруппу и солюбилизирующую группу;

m равно от 0 до 5, а n равно от 0 до 4;

группа R<sub>3</sub> представлена одной из следующих групп:

(i) арильная группа, такая как фенильная, или ее замещенный вариант, несущий любую комбинацию в любом одном положении кольца, одного или более заместителя, такого как водород, алкильные группы, содержащие от 1 до 10 атомов углерода, трифторметил, циано- и алкоксигруппы;

(ii) гетероарильная группа, такая как 2-, 3- или 4-пиридинильная группа, которая может дополнительно включать любую комбинацию из одного или более заместителя, такого как галоген, алкильные группы, содержащие от 1 до 10 атомов углерода, трифторметил и алкоксигруппа;

(iii) 5-членная ароматическая кольцевая гетероциклическая группа, такая как, например, 2-тиенил, 3-тиенил, 2-тиазолил, 4-тиазолил, 5-тиазолил, которые дополнительно могут включать любую комбинацию из одного или более заместителя, такого как галоген, алкильные группы, содержащие от 1 до 10 атомов углерода, трифторметил и алкоксигруппа,

а также его фармацевтически приемлемая соль или сольват.

Ингибиторы тирозинкиназы, имеющие формулу (А), предпочтительно могут использоваться в качестве с-Kit ингибиторов.

Если специально не оговаривается иное, термины, используемые в описании изобретения, означают следующее.

Используемый здесь термин "арильная группа" относится к моноциклическому или полициклическому ароматическому радикалу, содержащему атомы углерода и водорода. Примерами подходящих арильных групп являются, без ограничений указанными, фенил, толил, антраценил, флуоренил, инденил, азуленил и нафтил, а также слитые с бензоконденсированные карбоциклические молекулы, такие как 5,6,7,8-

тетрагидронафтил. Арильная группа может быть незамещенной или замещенной одним или более заместителем. Согласно одному варианту осуществления изобретения, арильная группа является моноциклическим кольцом, при этом указанное кольцо содержит 6 атомов углерода и обозначается в описании как "(C<sub>6</sub>)арил".

Используемый здесь термин "алкильная группа" относится к насыщенному нециклическому углеводороду с прямой или разветвленной цепью, имеющему от 1 до 10 атомов углерода. Примерами насыщенных алкилов с прямой цепью являются метил, этил, н-пропил, н-бутил, н-пентил, н-гексил, н-гептил, н-октил, н-нонил и н-децил, а примерами насыщенных разветвленных алкилов являются изопропил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил, изопентил, 2-метилбутил, 3-метилбутил, 2-метилпентил, 3-метилпентил, 4-метилпентил, 2-метилгексил, 3-метилгексил, 4-метилгексил, 5-метилгексил, 2,3-диметилбутил, 2,3-диметилпентил, 2,4-диметилпентил, 2,3-диметилгексил, 2,4-диметилгексил, 2,5-диметилгексил, 2,2-диметилпентил, 2,2-диметилгексил, 3,3-диметилпентил, 3,3-диметилгексил, 4,4-диметилгексил, 2-этилпентил, 3-этилпентил, 2-этилгексил, 3-этилгексил, 4-этилгексил, 2-метил-2-этилпентил, 2-метил-3-этилпентил, 2-метил-4-этилпентил, 2-метил-2-этилгексил, 2-метил-3-этилгексил, 2-метил-4-этилгексил, 2,2-диэтилпентил, 3,3-диэтилгексил, 2,2-диэтилгексил, 3,3-диэтилгексил и им подобные. Алкильные группы в составе соединений, заявленных в соответствии с настоящим изобретением, могут быть в некоторых случаях замещены одним или более заместителем.

Используемый здесь термин "алкокси" относится к алкильной группе, которая прикреплена в другой молекуле посредством атома кислорода. Примерами алкоксигрупп являются метокси-, изопропокси-, этокси-, трет-бутокси- группы и им подобные. Алкоксигруппы могут быть в некоторых случаях замещены одним или более заместителем.

Используемый здесь термин "гетероарил" или подобные термины относятся к моноциклическим или полициклическим гетероароматическим кольцам, содержащим углеродные члены кольца и один или более гетероатом (такой как, например, кислород, сера или азот). Обычно гетерарильная группа имеет от 1 до 5 гетероатомных членов кольца и от 1 до приблизительно 14 углеродных членов кольца. Примерами гетероарильных групп являются придил, 1-оксопиридил, фуранил, бензо[1,3]диоксолил, бензо[1,4]-диоксинил, тиенил, пирролил, оксазолил, имидазолил, тиазолил, изоксазолил, хинолинил, пиразолил, изотиазолил, пиридазинил, пиримидинил, пиразинил, триазинил, триазолил, тиадиазолил, изохинолинил, индазолил, бензоксазолил, бензофурил, индолизинил, имидазопиридил, тетразолил, бензимидазолил, бензотиазолил, бензотиадиазолил, бензоксадиазолил, индолил, тетрагидроиндолил, азаиндолил, имидазопиридил, хиназолинил, пуринил, пирроло[2,3]пиримидинил, пиразоло[3,4]пиримидинил, имидазо[1,2-а]пиридил и бензо(б)тиенил. Гетероатом может быть замещен защитной группой, известной специалистам в области техники, например водород на азоте может быть замещен трет-бутоксикарбонильной группой. Гетероарильные группы могут быть, при необходимости, замещены одним или более заместителем. Кроме того, гетероатомные члены кольца, такие как азот или сера, могут быть окислены.

Согласно одному варианту осуществления изобретения гетероароматическое кольцо выбрано из 5-8-членных моноциклических гетероарильных колец. Место прикрепления гетероароматического или гетероарильного кольца к другой группе может быть в месте расположения как атома углерода, так и гетероатома гетероароматического или гетероарильного кольца.

Термин "гетероцикл", используемый в описании, объединяет гетероциклоалкильные группы и гетероарильные группы.

Используемый в описании термин "гетероциклоалкил" обозначает моноциклическую или полициклическую группу, имеющую по крайней мере один гетероатом, такой как O, N или S, и от 2 до 11 атомов углерода, которые могут быть насыщенными или ненасыщенными, но не ароматическими. Примерами гетероциклоалкильных групп являются (без ограничений указанными) пиперидинил, пиперазинил, 2-оксопиперазинил, 2-оксопиперидинил, 2-оксопирролидинил, 4-пиперидонил, пирролидинил, гидантоинил, валеролактамы, оксиранил, оксетанил, тетрагидропиранил, тетрагидротииопиранил, тетрагидропириндинил, тетрагидропиримидинил, тетрагидротииопиранил сульфид, тетрагидротииопиранил сульфоксид, морфолинил, тиоморфолинил, тиоморфолинил сульфид, тиоморфолинил сульфид, 1,3-диоксолан, тетрагидрофуранил, дигидрофуранил-2-он, тетрагидротииенил и тетрагидро-1,1-диоксотииенил. Обычно моноциклические гетероциклоалкильные группы имеют от 3 до 7 членов. Предпочтительно 3-7-членные моноциклические гетероциклоалкильные группы представлены группами, имеющими 5-6 атомов в кольце. Гетероатом может быть замещен защитной группой, хорошо известной специалистам из области техники, например водород на азоте может быть замещен трет-бутоксикарбонильной группой. Кроме того, гетероциклоалкильные группы могут быть, при необходимости, замещены одним или более заместителем. Кроме того, место прикрепления гетероциклического кольца к другой группе может быть в месте расположения как атома углерода, так и гетероатома гетероциклического кольца. Только стабильные изомеры таких замещенных гетероциклических групп рассматриваются в данном определении.

Используемый в настоящем описании термин "заместитель" или "замещенный" означает, что водородный радикал в соединении или группе замещен любой желательной группой, которая, по сути, является стабильной в условиях химической реакции как в незащищенной форме, так и в защищенной форме с помощью защитной группы. Примерами подходящих заместителей являются вещества, описанные в

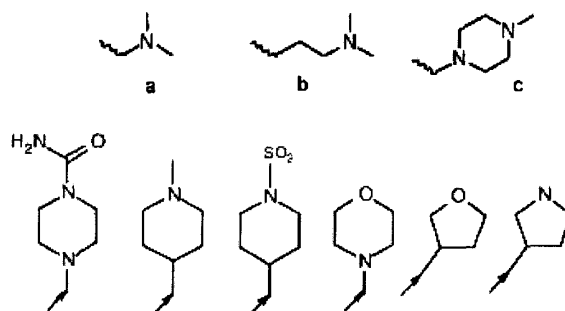
тексте в примерах и вариантах осуществления изобретения, а также галогены (хлор, йод, бром или фтор); алкил; алкенил; алкинил; гидрокси; алкокси; нитро; тиол; тиоэфир; имин; циано; амидо; фосфонато; фосфин; карбоксил; тиокарбонил; сульфонил; сульфонамид; кетон; альдегид; сложный эфир; кислород (-O); галоалкил (например, трифторметил); циклоалкил; которые могут быть как моноциклическими, так и конденсированными и неконденсированными полициклическими группами (например, циклопропил, циклобутил, цикlopентил или циклогексил) или гетероциклическими; как моноциклическими, так и конденсированными или неконденсированными полициклическими группами (например, пирролидинил, пиперидинил, пиперазинил, морфолинил или тиазинил); как моноциклическим, так и конденсированным, или неконденсированным полициклическим арилом или гетероарилом (например, фенил, нафтил, пирролил, индолил, фуранил, тиофенил, имидазолил, оксазолил, изоксазолил, тиазолил, триазаол, тетразолил, пиразолил, пиридил, хинолинил, изохинолинил, акридинил, пиразинил, пиридазинил, пиримидинил, бензимидазолил, бензотиофенил или бензофуранил); аминогруппы (первичные, вторичные или третичные);  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ;  $\text{CONH}_2$ ;  $\text{OCH}_2\text{CONH}_2$ ;  $\text{NH}_2$ ;  $\text{SO}_2\text{NH}_2$ ;  $\text{OCHF}_2$ ;  $\text{CF}_3$ ;  $\text{OCF}_3$  и подобные молекулы могут быть, при необходимости, замещены конденсированной кольцевой структурой или мостиком, например  $-\text{OCH}_2\text{O}-$ . Указанные заместители могут быть, при необходимости, дополнительно замещены заместителем, выбранным из указанных выше групп. Согласно определенным вариантам осуществления изобретения термин "заместитель" или прилагательное "замещенный" относятся к заместителю, выбранному из группы, включающей алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, циклоалкенил, гетероциклоалкенил, арил, гетероарил, аралкил, гетераралкил, галоалкил,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}_{13}$ ,  $-\text{NR}_{11}\text{R}_{12}$ ,  $-\text{SR}_{13}$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_{13}$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{R}_{13}$ ,  $\text{NR}_{13}\text{C}(\text{O})\text{NR}_{11}\text{R}_{12}$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}_{11}\text{R}_{12}$ ,  $-\text{NR}_{13}\text{C}(\text{O})\text{OR}_{14}$ ,  $-\text{S}(\text{O})_r\text{R}_{13}$ ,  $-\text{NR}_{13}\text{S}(\text{O})_r\text{R}_{14}$ ,  $-\text{OS}(\text{O})_r\text{R}_{14}$ ,  $\text{S}(\text{O})_r\text{NR}_{11}\text{R}_{12}$ ,  $-\text{O}$ ,  $-\text{S}$  и  $-\text{N}-\text{R}_{13}$ , где  $r$  равен 1 или 2,  $\text{R}_{11}$  и  $\text{R}_{12}$ , для каждого случая и независимо друг от друга, представляют собой H, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный алкенил, необязательно замещенный алкинил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный циклоалкенил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенный аралкил, необязательно замещенный гетероаралкил; или  $\text{R}_{11}$  и  $\text{R}_{12}$  вместе с азотом, к которому они прикреплены, представляют собой необязательно замещенный гетероциклоалкил или необязательно замещенный гетероарил; а  $\text{R}_{13}$  и  $\text{R}_{14}$ , для каждого случая и независимо друг от друга, представляют собой H, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный алкенил, необязательно замещенный алкинил, необязательно замещенный циклоалкил, необязательно замещенный циклоалкенил, необязательно замещенный гетероциклоалкил, необязательно замещенный арил, необязательно замещенный гетероарил, необязательно замещенный аралкил, необязательно замещенный гетероаралкил. Согласно определенным вариантам осуществления изобретения термин "заместитель" или прилагательное "замещенный" относятся к сольбилизирующей группе.

Термин "сольбилизирующая группа" относится к любой группе, которая может быть ионизирована и которая обеспечивает растворение соединения в желаемой растворителе, таком как, например, вода или водосодержащий растворитель. Кроме того, сольбилизирующая группа может представлять собой группу, которая увеличивает липофильность соединения или комплекса. Обычно сольбилизирующая группа выбрана из алкильной группы, замещенной одним или более гетероатомом, таким, как N, O, S, каждый из которых необязательно может быть замещен алкильной группой, замещенной независимо алкокси-, amino-, алкиламино-, диалкиламино-, карбоксил-, цианогруппой или замещенной циклогетероалкилом или гетероарилом, или фосфатом или сульфатом, или карбоновой кислотой. Например, термин "сольбилизирующая группа" в данном описании может относиться к следующим соединениям:

алкильная, циклоалкильная, арильная, гетероарильная группа, включающая по крайней мере один гетероатом азота или кислорода, или чья группа замещена по крайней мере одной amino- или оксигруппой;

аминогруппа, которая может быть насыщенной циклической аминогруппой, замещенной группой, включающей алкил, алкоксикарбонил, галоген, галоалкил, гидроксикал, amino, моноалкиламино, диалкиламино, карбамоил, моноалкилкарбамоил и диалкилкарбамоил;

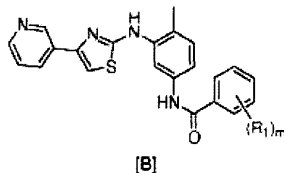
одна из структур от а) до i), представленных ниже, при этом волнистая линия и стрелка соответствуют точкам прикрепления к структуре ядра формулы [A]:



Термин "циклоалкил" означает насыщенный циклический алкильный радикал, имеющий от 3 до 10 атомов углерода. Примерами циклоалкилов являются циклопропил, 1-метилциклопропил, циклобутил, цикlopентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, циклононил и циклодецил. Циклоалкильные группы могут быть необязательно замещены одним или более заместителем.

Термин "галоген" означает -F, -Cl-, -Br или -I.

Согласно одному из вариантов осуществления изобретения заявленный ингибитор тирозинкиназы имеет общую формулу [B]



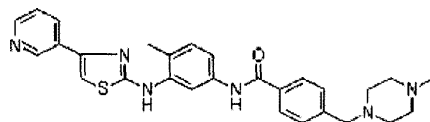
в которой  $R_1$  независимо выбран из группы, включающей водород, галоген, линейный или разветвленный алкил, циклоалкильную группу, содержащую от 1 до 10 атомов углерода, трифторметил, алкокси-, amino-, алкиламино-, диалкиламиногруппу, солубилизирующую группу;  $m$  равно от 0 до 5.

Согласно еще одному варианту осуществления изобретения ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток или c-Kit ингибитор представлен маситинибом или его фармацевтически приемлемой солью, более предпочтительно мезилатом маситиниба.

Маситиниб представляет собой c-Kit/PDGFR ингибитор с потенциальной активностью против тучных клеток.

Новые потенциальные и селективные c-Kit/рецептора фактора роста тромбоцитов (PDGFR) ингибиторы представляют собой 2-(3-аминоарил)амино-4-арилтиазолы, описанные в WO 2004/014903.

Маситиниб представляет маломолекулярное лекарственное средство, селективно ингибирующее специфические тирозинкиназы, такие как c-Kit, PDGFR, Lyn, Fyn и DDR1 без ингибирования, в терапевтических дозах, киназ, ассоциированных с известным токсическим действием (т.е. такие тирозинкиназы, или рецепторы тирозинкиназ, относящиеся к возможным ингибиторам тирозинкиназ кардиотоксичности, включая ABL, KDR и Src) [Dubreuil et al., PLOS ONE. 2009, 4(9):7258; Davis et al., Nat. Biotechnol. 2011, 29(11):1046-51]. Химическое название маситиниба 4-(4-метилпиперазин-1-илметил)-N-[4-метил-3-(4-пиридин-3-илтиазол-2-иламино)фенил]бензамид, CAS номер 790299-79-5, а структура представлена ниже. Маситиниб впервые был описан в патентах US 7423055 и EP 1525200B1. Детальная процедура синтеза маситиниб мезилата описана в WO 2008/098949:



Основной мишенью действия маситиниба является киназа c-Kit, которая, как было показано, оказывает сильный ингибирующий эффект на околочеловеческие-мутированные c-Kit рецепторы и рецепторы дикого типа, что приводит к блокировке клеточного цикла и апоптозу клеточных линий, зависимых от c-Kit сигнальных путей [Dubreuil et al., 2009, PLOS ONE, 4(9):7258]. In vitro маситиниб демонстрировал высокую активность и селективность против c-Kit, ингибируя рекомбинантную человеческую c-Kit дикого типа с концентрацией полумаксимального ингибирования ( $IC_{50}$ )  $200 \pm 40$  нМ и блокируя индуцированную фактором стволовых клеток пролиферацию и фосфорилирование тирозина c-Kit с  $IC_{50}$   $150 \pm 80$  нМ в Ba/F3 клетках, экспрессирующих человеческую или мышиную c-Kit дикого типа. Помимо антипролиферативных свойств, маситиниб также регулирует активацию тучных клеток посредством действия на Lyn и Fyn, ключевые компоненты пути передачи сигнала, приводящего к IgE-индуцированной дегрануляции [Gilfillan et al., 2006, Nat. Rev. Immunol., 6:218-230; Gilfillan et al., 2009, Immunological Reviews, 228:149-169]. Это может проявляться в ингибировании FcεRI-опосредованной дегрануляции тучных клеток из пуповинной крови человека [Dubreuil et al., 2009, PLOS ONE. 4(9):7258]. Маситиниб также является ингибитором PDGFR и β рецепторов. Рекомбинантные исследования показали, что маситиниб ингибирует активность протеинкиназ PDGFR-α и β in vitro с  $IC_{50}$   $540 \pm 60$  нМ и  $800 \pm 120$  нМ.

В Ba/F3 клетках, экспрессирующих PDGFR-α, маситиниб ингибирует PDGF-BB-стимулированную пролиферацию и фосфорилирование тирозина PDGFR-α с  $IC_{50}$   $300 \pm 5$  нМ. Более того, маситиниб сильно взаимодействует с киназой DDR1 (член семейства рецепторов, которые содержат домен, гомологичный белку дискоидин 1), что приводит к продолжительному ингибированию аутофосфорилирования DDR1. Хотя физиологические функции DDR1 до конца полностью не ясны, полагают, что передача сигнала посредством DDR1 может участвовать в клеточных взаимодействиях с внеклеточным матриксом и контролирует адгезию и клеточную подвижность, свойства, которые являются неотъемлемой характеристикой



раковых клеток. Нарушение регуляции указанных механизмов ассоциируется с опухолевым прогрессированием и плохим прогнозом при многих типах рака у человека. Было показано, что маситиниб сильно связывается с рецептором DDR1 и ингибирует его активность [Davis et al., Nat. Biotechnol. 2011, 29(11):1046-51]. Таким образом, маситиниб может замедлять хоминг и колонизацию опухолевых клеток.

Настоящее изобретение относится к способу лечения рака у человека, при этом указанный способ включает введение пациенту, нуждающемуся в лечении, ингибитора тирозинкиназ, ингибитора тучных клеток или с-Kit ингибитора, в частности маситиниба или его фармацевтически приемлемой соли, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом.

В контексте настоящего изобретения термин "лечение" (и его различные грамматические формы) относится к предотвращению, излечиванию, изменению течения, ослаблению, смягчению, минимизации, подавлению или прекращению пагубных последствий заболевания, прогрессирования заболевания, действия агента, вызвавшего заболевание (например, бактерии или вируса) или другого патологического состояния. Например, лечение может включать смягчение симптома (т.е. необязательно всех симптомов) заболевания или подавление прогрессирования заболевания.

Авторы изобретения неожиданно обнаружили, что комбинация маситиниба с гемцитабином оказывает благоприятное терапевтическое действие у различных субпопуляций пациентов с раком поджелудочной железы, при этом интенсивность боли служит независимым прогностическим фактором.

На основании упомянутых выше предварительных *in vitro* и *in vivo* полученных данных было проведено рандомизированное плацебо-контролируемое клиническое исследование 3 фазы (AB07012) для определения эффективности и безопасности маситиниба в комбинации с гемцитабином по сравнению с монотерапией гемцитабином как терапией первой линии у пациентов с распространенным/метастатическим раком поджелудочной железы (фиг. 1). Предварительно утверждалось, что принципиальный механизм действия, приводящий к любому улучшению выживаемости пациентов, получавших маситиниб, обусловлен индуцированной маситинибом чувствительностью раковых клеток поджелудочной железы к гемцитабину. Из этого следует, что популяция пациентов, у которой будет наблюдаться положительный эффект от лечения комбинацией маситиниб + гемцитабин, практически идентична популяции, отвечающей на лечение гемцитабином, без учета популяционных различий, таких как общее состояние пациента, возраст или локализация опухоли и т.д.; т.е. это все пациенты с местно распространенной (неоперабельная опухоль стадии II или стадии III) или метастатической аденокарциномой поджелудочной железы.

Результаты исследования AB07012 показали, что в модифицированной популяции всех пациентов, включенных в исследование (mITT), не было выявлено улучшения выживаемости пациентов, получавших лечение маситинибом в комбинации с гемцитабином, по сравнению с пациентами, получавшими гемцитабин + плацебо, т.е. гемцитабином в качестве монотерапии (см. пример 1). Неожиданно вторичный эксплораторный анализ общей выживаемости, стратифицированный в отношении интенсивности боли, показал, что комбинация маситиниб + гемцитабин улучшала выживаемость пациентов с раком поджелудочной железы по сравнению с монотерапией гемцитабином у субпопуляции пациентов, у которых рак поджелудочной железы был ассоциирован с выраженным болевым синдромом или требовал введения опиоидных анальгетиков для лечения указанного болевого синдрома, ассоциированного с заболеванием. Полученные данные также показали, без прецедента, что интенсивность боли была главным прогностическим фактором для общей выживаемости пациентов с раком поджелудочной железы, получавших гемцитабин в качестве монотерапии (существующий стандарт лечения). Специфически, полученные данные показали, что для пациентов, получающих гемцитабин в качестве монотерапии (т.е. схема лечения плацебо + гемцитабин), существовала разница во времени выживания около 10 месяцев между пациентами, имевшими на момент начала исследования болевой синдром, и пациентами, не имевшими болевого синдрома, ассоциированного с заболеванием и требующего применения опиоидных анальгетиков для купирования указанного болевого синдрома (средняя общая выживаемость 5,4 против 15,4 месяцев соответственно) (см. пример 1). Кроме того, при анализе изменений отношений рисков для общей выживаемости в соответствии с интенсивностью боли было установлено, что возможность выживания улучшалась с увеличением интенсивности боли для пациентов, получавших маситиниб + гемцитабин, по сравнению с пациентами, получавшими плацебо + гемцитабин. Эта зависимость представлена на кривой отношения рисков для смерти, определенной как вероятность смерти при лечении комбинацией маситиниб + гемцитабин по отношению к вероятности смерти при лечении комбинацией гемцитабин + плацебо, против количества баллов по ВАШ (фиг. 1). Отношение рисков для смерти имело тенденцию к снижению с увеличением баллов по ВАШ до достижения фазы плато (или горизонтальной асимптоты), при величине ВАШ в 20 мм. При величине ВАШ в 55 мм количество пациентов быстро снижалось, и отношение рисков, следовательно, уже не подходило для дальнейшего анализа. Указанные результаты подтверждают правильность выбора разделения популяции пациентов на три субпопуляции в соответствии с интенсивностью боли по ВАШ: ВАШ [0; 5], ВАШ [5; 20] и ВАШ >20 мм (см. пример 1).

Эти открытия являются очень важными, поскольку прогностическая терапевтическая значимость интенсивности боли у раковых пациентов была до этого момента неизвестна. Более того, в предыдущем исследовании, в котором оценивалась эффективность схемы эрлотиниб (Tarceva® ингибитор EGFR фак-

тора роста) + гемцитабин для лечения рака поджелудочной железы, было показано, что для эквивалентной "болевой" субпопуляции не существует преимуществ выживаемости [Moore M.J., et al., J. Clin. Oncol. 2007, 25(15):1960-6]. Это строго противоположно тому, что было обнаружено для комбинации маситиниб + гемцитабин. Данные также показали, что механизмы действия, обуславливающие указанные терапевтические преимущества комбинированной терапии, имеют относительно медленное проявление, что требует минимального времени воздействия для достижения терапевтического преимущества.

Такой результат невозможно было предсказать на основании знаний, полученных в предыдущем клиническом исследовании AB07012, или на основании общей клинической литературы. Кроме того, данные открытия сильно противоречат существующему пониманию первичного механизма действия комбинации маситиниб + гемцитабин при раке поджелудочной железы, т.е. маситиниб-индуцированной сенсибилизации раковых клеток к гемцитабину [Humbert M., et al., 2010, PLOS ONE, 5(3):9430, 10.1371/0009430]. Указанные данные эффективно показывают, что в клинических условиях лечения рака поджелудочной железы *in vivo* сенсибилизация раковых клеток поджелудочной железы не может являться первичным механизмом действия маситиниба, поскольку (i) не должно быть гетерогенности в ответе на лечение в зависимости от интенсивности боли, обусловленной заболеванием; и (ii) такой эффект, как ожидается, должен иметь относительно быстрый дебют и, следовательно, манифестировать сам по себе, приводя к прогрессированию выживаемости, чего не было отмечено.

Данные исследования AB07012 (см. пример 1) позволили сделать удивительное открытие, что очень разнородная субпопуляция пациентов с раком поджелудочной железы отвечает на лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин, при этом различие между пациентами основывается на уровне (интенсивности) боли, обусловленной заболеванием. Также вопреки ожиданиям, дебют указанного ответа в эффективности был относительно медленным по сравнению с дополнительными показателями прогрессирования заболевания; эффект проявлялся в большей степени в отношении отдаленной выживаемости (т.е. общей выживаемости), чем в отношении краткосрочного прогрессирования заболевания (т.е. выживаемость без прогрессирования). Все указанные открытия указывают на вторичные механизмы действия, ответственные за наблюдаемые терапевтические преимущества (обозначаемые как вторичные, поскольку они направлены не непосредственно на раковые клетки, но на клетки и сигнальные пути, при помощи которых раковые клетки пролиферируют и метастазируют), и, более вероятно, на наличие совокупного эффекта множественных вторичных механизмов действия.

В связи с настоящим изобретением авторы полагают, что маситиниб при введении в сочетании по крайней мере с одним противоопухолевым агентом улучшает выживаемость в субпопуляции пациентов с раком, ассоциированным с болевым синдромом и требующим введения опиоидных анальгетиков для купирования указанного болевого синдрома, ассоциированного с заболеванием, за счет следующих механизмов (без ограничений указанными): контроль опухолевой пролиферации посредством модуляции опухолевого микроокружения и, в частности, посредством модуляции активности тучных клеток; модуляция опосредованных иммуностимуляцией противораковых эффектов; антиметастатический механизм действия. Также существуют прямые и косвенные доказательства, связывающие эффект маситиниба с каждым из указанных вторичных механизмов действия.

Особое значение имеет тот факт, что маситиниб посредством ингибирования c-Kit оказывает прямое антипролиферативное и проапоптотическое действие на тучные клетки и, таким образом, опосредованно снижает поток провоспалительных и проангиогенных цитокинов и хемокинов, которые являются важными компонентами в процессе опухолевого роста и опухолевой инвазии.

Помимо своих антипролиферативных свойств, маситиниб также может регулировать активацию тучных клеток посредством действия на Lyn и Fyn, ключевые компоненты пути передачи сигнала, приводящего к IgE-индуцированной дегрануляции тучных клеток [Gilfillan, 2006; Gilfillan, 2009]. Это может проявляться в ингибировании FcεRI-опосредованной дегрануляции тучных клеток из пуповинной крови человека [Dubreuil et al., 2009]. Маситиниб также сильно взаимодействует с DDR1, киназой, дегрануляционные способности которой ассоциируются с опухолевой прогрессией и плохим прогнозом при различных типах рака [Davis et al., Nat. Biotechnol., 2011, 29(11):1046-51]. Таким образом, маситиниб может замедлять хоминг и колонизацию опухолевых клеток.

Практика показывает, что рекрутинг воспалительных клеток, в особенности инфильтрация тучными клетками, усиливает рост и распространение некоторых типов рака за счет продукции молекул, увеличивающих опухолевую инвазивность. Таким образом, ингибирование функции тучных клеток может иметь терапевтическое значение в сдерживании роста раковых опухолей, включая рак поджелудочной железы. Кроме того, известна взаимосвязь между воспалением и развитием рака поджелудочной железы, при этом тучные клетки играют важную роль в иммунопатологических механизмах хронических воспалительных заболеваний. Кроме того, тучные клетки были напрямую связаны с развитием рака поджелудочной железы у модельных мышей, на которых также было показано, что высокие уровни инфильтрации опухолевого микроокружения тучными клетками являются прогностическим фактором неблагоприятного исхода, хотя точный механизм участия тучных клеток в развитии рака поджелудочной железы остается неясным [Chang D.Z. et al., Clin. Res. 2011, 17:7015-7023].

На протяжении процесса онкогенеза, прогрессирования онкологического заболевания и метастази-

рования микроокружение местной ткани-хозяина является активным участником и определяет масштаб пролиферации раковых клеток, ангиогенез, инвазию и выживаемость раковых клеток. Роль тучных клеток в онкогенезе до настоящего времени точно неизвестна, существует множество противоречивых данных как о благоприятном, так и отрицательном их влиянии на онкогенез, в зависимости от местных стромальных условий и от того, насколько высвобождаемые медиаторы усиливают пролиферацию раковых клеток или индуцируют их апоптоз [Theoharides T.C., et al., Trends Immunol. 2004, 25:235; (Samoszuk M., et al., BMC Cancer 2005, 21:121; (Almholt K., et al., Recent Results Cancer Res. 2003, 162:31; Gooch J.L., et al., Cancer Res., 1998, 15:4199-205].

Объем научных знаний, касающихся роли тучных клеток в опухолевой прогрессии и инвазии при раке поджелудочной железы, а также их возможная роль в патогенезе раковой боли придает правдоподобность данным, полученным в исследовании AB07012. Кроме того, не желая связывать себя какой-либо теорией, авторы считают, что данные, полученные в исследовании AB07012, свидетельствуют, что существует ранее неизвестная взаимосвязь между активацией тучных клеток, патогенезом рака поджелудочной железы и болевого синдрома при раке поджелудочной железы. То есть существует корреляция между активностью тучных клеток и плохим клиническим исходом при раке поджелудочной железы, корреляция между болевым синдромом при раке поджелудочной железы и плохим клиническим исходом при раке поджелудочной железы, а также корреляция между активностью тучных клеток и болевым синдромом при раке поджелудочной железы. Таким образом, дебют болевого синдрома, ассоциированного с раком поджелудочной железы, может служить маркером активности тучных клеток, которая, в свою очередь, сигнализирует о начале более агрессивной стадии в патогенезе рака. При таком сценарии авторы изобретения считают, что до определенного уровня болевой синдром у раковых пациентов, в особенности у пациентов с раком поджелудочной железы, является своего рода нейропатогенным, индуцированным раком побочным явлением изменений в опухолевом микроокружении; изменений, ответственных за прогрессирование заболевания и метастазирование, включающих рекрутинг тучных клеток и усиление их активации.

В связи с настоящим изобретением начало и тяжесть болевого синдрома, обусловленного заболеванием, может считаться маркером патогенеза рака, при этом повышенная активность тучных клеток частично ответственна как за опухолевую прогрессию, так и за развитие болевого синдрома. Следовательно, ингибирование активности тучных клеток является вероятной терапевтической мишенью для субпопуляции пациентов, страдающих от обусловленного раком болевого синдрома или требующих введения опиоидных анальгетиков для купирования указанного болевого синдрома. Это очевидно из неожиданного открытия, что маситиниб при введении в комбинации с гемцитабином увеличивал общую выживаемость в субпопуляции пациентов с раком поджелудочной железы, страдающих от обусловленного заболеванием болевого синдрома. Кроме того, данные, полученные в исследовании AB0702, показали, что комбинация маситиниба + гемцитабин увеличивала общую выживаемость в субпопуляции пациентов с раком поджелудочной железы без опосредованного заболеванием болевого синдрома, требующего введения опиоидных анальгетиков для купирования указанного болевого синдрома. Следовательно, на основании прогностического фактора интенсивности боли при отсутствии любого другого независимого прогностического фактора нецелесообразно лечить пациентов из указанной субпопуляции маситинибом.

Следовательно, разнородная субпопуляция пациентов из общей популяции пациентов с раком поджелудочной железы, как было показано, имеет терапевтическое преимущество от использования по крайней мере одного соединения, заявленного в изобретении (т.е. ингибитора тирозинкиназы, ингибитора тучных клеток и с-Kit ингибитора, в частности маситиниба) в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом (в частности, гемцитабином). Указанная субпопуляция может быть идентифицирована посредством измерения интенсивности обусловленной заболеванием боли; например (без ограничений указанными), по крайней мере одно сообщение пациента о наличии ненулевого балла интенсивности боли по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) (например, ВАШ >20 мм при измерении на 100 мм линейке, или 20%) или эквивалентного измерения предела болевой интенсивности. Эта субпопуляция определяет один вариант пациентов, имеющих отношение к настоящему изобретению.

Целый ряд биохимических маркеров ассоциируется с развитием болевого синдрома, один или несколько из которых могут служить дополнительными маркерами к основному объективному прогностическому фактору интенсивности боли, описанному выше. К таким биохимическим маркерам относятся (без ограничений указанными) фактор роста нервов (NGF), брадикинин, триптаза, гистамин, нейротропин-3 (NT-3) и нейротрофический фактор головного мозга (BDNF). Однако известно, что биохимические маркеры боли очень разнообразны и к настоящему моменту нет четких доказательств, что их количественное определение позволяет идентифицировать раковых пациентов, страдающих от обусловленного заболеванием болевого синдрома. Аналогично, известные *in vivo* биохимические маркеры тучных клеток, такие как (без ограничений указанными) абсолютное число тучных клеток или уровни триптазы, как было показано, слабо коррелируют с активацией тучных клеток [Hermine O. et al., PLOS ONE. 2008, 3:2266]. Таким образом, при отсутствии достоверных дополнительных биохимических маркеров активации тучных клеток или болевого синдрома, обусловленного заболеванием, одномерные инструменты измерения интенсивности боли остаются наиболее подходящим и доступным вариантом, даже несмотря

на то, что они предоставляют относительно субъективные результаты измерения интенсивности боли и непрямые доказательства участия тучных клеток.

В связи с настоящим изобретением на основании полученных открытий (т.е. сопутствующее повышение активности тучных клеток, плохой клинический прогноз при раке и наличие болевого синдрома, обусловленного заболеванием) можно предположить, что при других типах рака также происходит рекрутинг тучных клеток или повышение активации тучных клеток. Очевидно, что дебют болевого синдрома, обусловленного заболеванием, служит маркером активности тучных клеток, что, в свою очередь, свидетельствует об изменениях в опухолевом микроокружении, которые ответственны за прогрессирование заболевания и метастазирование. Однако существующий в настоящее время недостаток знаний, касающихся опосредованного тучными клетками онкогенеза *in vivo*, и метастазирования, сопровождающегося дебютом болевого синдрома, для любого заданного типа рака мешает специалистам использовать подход в лечении рака, ассоциированного с болевым синдромом, основанный на воздействии на активность тучных клеток, что выходит за рамки метода проб и ошибок.

Основные результаты исследования AB07012, касающиеся лечения субпопуляции пациентов, идентифицированной с помощью прогностического фактора интенсивности боли, обобщены ниже (см. также пример 1).

Субпопуляция пациентов, страдающих раком поджелудочной железы, ассоциированным с болью, была идентифицирована в данном исследовании при помощи основной визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) с результатом интенсивности боли более 20 (т.е. ВАШ >20 мм при измерении на 100 мм линейке). Эта линейная шкала позволяет получить наглядное представление об амплитуде боли, как она ощущается пациентом (фиг. 2). Амплитуда была представлена 100 мм линейкой без каких-либо отметок. Один конец обозначает отсутствие боли (0 величина), а другой конец - худшую боль, которую только можно представить (величина 100). Для начала, каждого пациента попросили отметить уровень интенсивности боли, которую они ощущают, вертикальной линией на линейке ВАШ. Считалось, что пациент, не страдающий от болевого синдрома или испытывающий умеренную боль, нарисует вертикальную линию между 0 и 5 на линейке ВАШ.

Любой балл по ВАШ относится к абсолютной амплитуде на линейной шкале или эквивалентно выражается в процентах; например интенсивность боли 20 по ВАШ соответствует уровню боли 20 мм на 100 мм линейке, или, альтернативно, 20% от указанной шкалы. В контексте настоящего изобретения любое эквивалентное измерение такого предела интенсивности боли будет считаться достоверным; например (без ограничений указанным) при использовании одномерного инструмента для оценки интенсивности боли, балл >20% соответствует умеренной боли при использовании категоризации боли на основании критериев или умеренной боли при использовании многомерного инструмента для оценки боли.

Другая интерпретация указанного болевого предела заключается в том, что указанные раковые пациенты страдают от опосредованного заболеванием болевого синдрома умеренной интенсивности. Прогностический фактор интенсивности боли согласно варианту, описанному выше, был определен на основании следующих причин: (1) указанный предел был приблизительно (с округлением до десятков) равен средней интенсивности боли у пациентов в изучаемой популяции (50% популяции); (2) интенсивность боли 20 мм по ВАШ соответствовала фазе плато (горизонтальной асимптоте) в отношении рисков для смерти (см. фиг. 1); (3) указанный предел был предварительно указан в литературе как граница болевой интенсивности.

У субпопуляции пациентов с интенсивностью боли >20 по ВАШ или с эквивалентным результатом при измерении интенсивности боли другим инструментом (указанная субпопуляция далее обозначается в тексте как "болевая субпопуляция") гемцитабин работает лучше при введении в комбинации с маситинибом. Статистически значимое преимущество, выраженное в терминах средней общей выживаемости и отношении рисков для смерти, наблюдалось для комбинации гемцитабин + маситиниб при лечении пациентов с раком поджелудочной железы, ассоциированным с болевым синдромом с баллом по ВАШ >20.

Для субпопуляции с интенсивностью боли <5 по ВАШ или с эквивалентным результатом при измерении интенсивности боли другим инструментом, не требующей применения опиоидных анальгетиков для купирования обусловленного заболеванием болевого синдрома (указанная субпопуляция далее обозначается в тексте как "безболевая, безморфиновая субпопуляция"), гемцитабин работает хорошо в качестве монотерапии; что свидетельствует о том, что при отсутствии любого другого прогностического фактора лечение указанной субпопуляции пациентов комбинацией гемцитабин + маситиниб является нецелесообразным. Отрицательное терапевтическое преимущество, выраженное в терминах средней общей выживаемости и отношении рисков для смерти, наблюдалось для комбинации гемцитабин плюс маситиниб при лечении пациентов из "безболевой, безморфиновой субпопуляции".

Для субпопуляции с интенсивностью боли >5, но <20 по ВАШ или с эквивалентным результатом при измерении интенсивности боли другим инструментом (указанная субпопуляция далее обозначается в тексте как "болевая субпопуляция с интенсивностью боли ниже средней") было показано статистически значимое преимущество в отношении рисков, однако существенных различий в средней общей выживаемости выявлено не было. Для указанной субпопуляции пациентов не будет как ни существенного вреда, так и существенного преимущества в отношении выживаемости при использовании комбинации

маситиниб + гемцитабин, что свидетельствует о том, что указанная субпопуляция является нейтральной (т.е. при использовании маситиниба не будет никакого вреда).

Частота смертельных исходов в результате серьезных побочных эффектов в болевой субпопуляции была ниже (в два раза) при лечении комбинацией гемцитабин плюс маситиниб по сравнению с субпопуляцией, получавшей плацебо плюс гемцитабин (10,9 против 21,9% соответственно). Токсичность комбинации гемцитабин плюс маситиниб соответствовала известному профилю безопасности маситиниба и была управляемой; любой риск развития угрожающих жизни осложнений был существенно уменьшен за счет точного прогнозирования возможности их возникновения и применения установленных протоколов, в частности протокола для тяжелой нейтропении.

Согласно одному из вариантов осуществления настоящего изобретения использование по крайней мере одного заявленного соединения для лечения рака поджелудочной железы будет зависеть (без строгих ограничений указанным) от следующего:

лечение показано в том случае, когда пациент удовлетворяет критерию "болевой субпопуляции", т.е. имеет место хотя бы одно сообщение пациента о наличии боли с интенсивностью  $>20$  по ВАШ или эквивалентное измерение интенсивности боли при помощи другого инструмента;

по крайней мере один вопрос должен быть задан пациенту, для исключения болевого синдрома, не имеющего отношения к раку поджелудочной железы, например пациента просят указать точную локализацию боли;

строгое следование правилу о не назначении лечения пациентам из "безболевого, безморфиновой" субпопуляции, при отсутствии другого независимого прогностического фактора, защищает тех пациентов, которым введение комбинации гемцитабин плюс маситиниб, как было показано, причинит вред.

Указанный протокол аналогичен протоколу, который используется для диагностики хронического болевого синдрома при фибромиалгии; установленный диагностический критерий заключается в первую очередь в исключении других сопутствующих заболеваний, которые могут вызывать обусловленные болью симптомы; затем проводят оценку болевого синдрома у пациента (посредством опросника или физического осмотра).

Нейтральная субпопуляция пациентов ("болевая субпопуляция с интенсивностью боли ниже средней", ВАШ  $<20$  или эквивалентное измерение интенсивности боли другим инструментом), для которой не было выявлено статистически значимого преимущества отношения рисков, представляет собой большой буфер между субпопуляцией, которой показано лечение, и субпопуляцией, для которой указанное лечение является нецелесообразным. Диагностическое решение с точки зрения вреда/отсутствия вреда в результате лечения эффективно становится "двойным" индикатором, при этом состояние "нет боли, нет морфина" хорошо отличимо от состояния "боль" (ВАШ  $>20$ ). Неправильное лечение пациента из болевой субпопуляции с интенсивностью боли ниже средней не приведет к ухудшению выживаемости, единственный риск связан с возможной управляемой токсичностью.

В контексте настоящего изобретения эффективные варианты лечения пациентов с раком поджелудочной железы в "болевой" субпопуляции (ВАШ  $>20$ ) не существуют. Достоверность этого утверждения подтверждается данными исследования AB07012, свидетельствующими о наличии расхождения в выживаемости пациентов с болевым синдромом, получавших монотерапию гемцитабином; а также о различии во времени выживаемости вплоть до 10 месяцев между "болевой" и "безболевого, безморфиновой" субпопуляциями пациентов (т.е. пациенты из "болевой" субпопуляции имели меньшую продолжительность жизни) (см. пример 1). Кроме того, в исследовании, в котором изучался эффект комбинации эрлотиниб + гемцитабин, также не было выявлено преимущества в выживаемости для эквивалентной "болевой" субпопуляции, в то время как для пациентов с интенсивностью боли по ВАШ  $<20$  преимущество было очевидным. Наконец, преимущество комбинации Folfirinox для "болевой" субпопуляции пациентов с раком поджелудочной железы (ВАШ  $>20$ ) неизвестно, поскольку фактор боли не учитывался в анализе исследования, данное упущение будет, вероятно, влиять на данные выживаемости при использовании Folfirinox, поскольку существенное влияние интенсивности боли на выживаемость пациентов с раком поджелудочной железы было выявлено в исследовании AB07012.

Что касается анализа безопасности в исследовании AB07012, общая частота нежелательных явлений (АЕ) была одинакова при использовании обоих терапевтических режимов, в то время как частота серьезных и тяжелых АЕ была выше в субпопуляции, получавшей маситиниб + гемцитабин, по сравнению с субпопуляцией, получавшей гемцитабин плюс плацебо. Неблагоприятные реакции, требующие прекращения лечения, временное прекращение лечения и снижение дозы чаще наблюдались в субпопуляции, получавшей лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин, по сравнению с субпопуляцией, получавшей лечение плацебо + гемцитабин. Нежелательные явления, требующие прекращения лечения, возникали у 42% пациентов против 27% соответственно (величина  $p=0,002$ ). Из них нетяжелые АЕ составляли только 32% от всех случаев прекращения лечения в субпопуляции маситиниб + гемцитабин, при этом только 16% пациентов, получавших маситиниб + гемцитабин, потребовали снижения дозы. Вполне вероятно, что прекращения лечения в результате нетяжелых АЕ можно частично избежать за счет более частого снижения дозы маситиниба или за счет уменьшения начальной дозы маситиниба. Как следствие, воздействие изучаемого лекарственного средства было существенно ниже в субпопуляции,

получавшей гемцитабин плюс маситиниб ( $p=0,001$ ). В общей популяции пациентов воздействие гемцитабина в субпопуляции, получавшей гемцитабин плюс маситиниб, снижалось приблизительно на 35% по сравнению с субпопуляцией, получавшей гемцитабин плюс плацебо; такая же тенденция наблюдалась в субпопуляциях с различной интенсивностью боли. Все вместе указанные наблюдения, касающиеся безопасности и воздействия препарата, указывают, что вводимая доза маситиниба в 9 мг/кг в день не была оптимальной для пациентов, частично за счет дополнительной токсичности, ассоциированной комбинацией. Учитывая также новые идеи, касающиеся предполагаемых механизмов действия маситиниба, доза в 6 мг/кг в день считается оптимальной начальной дозой, при этом повышение дозы разрешается у пациентов с неадекватным ответом при отсутствии лимитирующей токсичности.

Авторы изобретения также показали, что генная экспрессия является независимым прогностическим фактором лучшей выживаемости пациентов с раком поджелудочной железы, получающих лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин.

Дополнительный фармакогеномный анализ экспрессии РНК в образцах периферической крови человека, собранных перед началом лечения маситинибом, проводили параллельно с исследованием AB07012 с целью идентифицировать паттерны генной экспрессии, прогностические в отношении общей выживаемости и эффективности лечения. Геномный анализ (осуществленный в Skuldtech, Montpellier, France) включал общий транскриптомный анализ экспрессии РНК с использованием высокоточного метода секвенирования нового поколения (осуществленного независимо в трипликате). Указанный анализ одновременно позволяет измерить уровень экспрессии большого количества генов в образцах периферической крови, собранных у субпопуляции пациентов, отобранных для исследования AB07012. Анализ сначала проводили на всей популяции, отобранной для исследования, независимо от режима лечения, с последующим анализом каждой лечебной субпопуляции, т.е. субпопуляций, получавших маситиниб или плацебо, для определения возможных генетических тенденций в соответствии с лечением. Целями этого дополнительного исследования было выявить биомаркеры, прогностические в отношении улучшенного выживания (т.е. повышенной OS) для пациентов, получавших маситиниб, по сравнению с пациентами, получавшими плацебо.

В частности, образцы РНК периферической крови собирали и анализировали, что позволило определить профиль генной экспрессии, свидетельствующей о возможном агрессивном прогрессировании заболевания; указанный профиль присутствовал у 55% пациентов и позволял с высокой точностью спрогнозировать общую выживаемость и, кроме того, влиял на лечение. Указанная дополнительная фармакогеномная база данных содержала РНК из образцов крови 119 пациентов, произвольным образом отобранных для исследования AB07012 (соотношение 1:1 в соответствии с лечебной субпопуляцией), для того, чтобы определить генные экспрессии, коррелирующие с лечебным эффектом. На первом этапе анализировали полный геном человека (27,000 генов) для того, чтобы определить возможную взаимосвязь между уровнями экспрессии РНК и общей выживаемостью с учетом выбранного способа лечения. РНК из образцов периферической крови собирали при помощи системы Raxgene, после чего конструировали три независимые дискретные библиотеки генной экспрессии DGE для четырех суммарных образцов РНК в соответствии со следующими лечебными профилями пациентов:

- пациенты из субпопуляции, получавшей маситиниб + гемцитабин, с выживаемостью  $\leq 4$  месяцев;
- пациенты из субпопуляции, получавшей плацебо + гемцитабин, с выживаемостью  $\leq 4$  месяцев;
- пациенты из субпопуляции, получавшей маситиниб + гемцитабин, с выживаемостью  $> 15$  месяцев;
- пациенты из субпопуляции, получавшей плацебо + гемцитабин, с выживаемостью  $> 15$  месяцев.

Полученная геномная база данных содержала данные о 119 рандомизированных пациентах, у которых были идентифицированы 169 генов при помощи анализа дифференциальной экспрессии с использованием метода edgeR с 1,5-кратным изменением и уровнем ложноположительных результатов скорректированным критерием  $p < 10\%$ .

На втором этапе осуществляли количественную ПЦР (количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени или qPCR), которая позволяет определить пороговый цикл (Ct) гена; указанная величина была нормирована в соответствии с уровнем экспрессии гена домашнего хозяйства или референсного гена для получения величины Дельта Ct (DCt). Гены домашнего хозяйства - это гены, которые экспрессируются во всех клетках организма как в нормальных, так и в патофизиологических условиях. Эти гены обычно имеют относительно постоянный уровень экспрессии. Предпочтительно нормирование основано на экспрессии двух генов домашнего хозяйства и, в частности, основано на экспрессии генов B2M и GAPDH. Следовательно, когда два гена домашнего хозяйства (например, гены B2M и GAPDH) используются для нормирования величины Ct заданного гена, величина DCt указанного гена рассчитывается следующим образом:  $DCt = Ct(\text{гена}) - [Ct(B2M) + Ct(GAPDH)]/2$ . DCt величины соответствуют относительно низкому уровню генной экспрессии. Основные методологические аспекты дополнительного фармакогеномного анализа в исследовании AB07012 и последующие результаты, касающиеся лечения субпопуляции пациентов, определенной на основании прогностических факторов генной экспрессии, обобщены ниже (см. также пример 2 для дополнительных деталей).

Что касается измерения генной экспрессии, согласно одному варианту осуществления изобретения

уровень экспрессии гена измеряется по уровню белка, синтезируемого указанным геном. В этом случае уровень белка предпочтительно измеряется при помощи способов, основанных на использовании анти-тел, таких как иммунохимический анализ или вестерн-блот.

Согласно другому варианту осуществления изобретения уровень экспрессии гена измеряется по уровню РНК транскрипта или кДНК указанных генов. В таком случае уровень РНК транскрипта(ов) или кДНК измеряется при помощи способов, основанных на определении нуклеиновых кислот, таких как микроматричный анализ, количественная ПЦР, ДНК чипы, гибридизация с мечеными зондами или иммунохроматографический анализ, в частности иммунохроматографический анализ с импрегнированным субстратом. Предпочтительно уровень экспрессии гена измеряется при помощи количественной ПЦР в реальном времени, осуществляемой на РНК транскрипте или кДНК указанного гена. Количественная ПЦР в реальном времени представляет собой ПЦР, при которой амплифицированную ДНК определяют по прогрессированию реакции в реальном времени. Это определение основано на накоплении флуоресцентного сигнала. Ct (пороговый цикл) определяется как количество циклов ПЦР, необходимых для того, чтобы флуоресцентный сигнал преодолел порог (т.е. превысил исходный уровень). Следовательно, в qPCR используется прямой или обратный праймер, а также репортер, предпочтительно ДНК флуоресцентный интеркалант. Преимущественно используются праймеры, специфичные для гибридизации с кодирующими участками гена.

Ниже представлен краткий обзор методологии и аналитических процессов, использованных для определения набора прогностических факторов генной экспрессии и, следовательно, субпопуляции пациентов, для которых лечение маситинибом будет иметь наибольшее преимущество. Указанный анализ включал одновременное измерение уровня экспрессии большого числа генов в образцах периферической крови человека, взятых у 119 пациентов, рандомизированных для исследования AB07012 (соотношение пациентов, получавших маситиниб, и пациентов, получавших плацебо, 1:1).

Образцы для анализа собирали однократно на 0 неделе (начало исследования).

Для сбора образцов крови пациентов использовалась система сбора РНК периферической крови PAXgene™, а РНК экстрагировали при помощи набора экстракции РНК PAXgene V.2 (PreAnalytix) в соответствии с инструкциями производителя. Контроль целостности РНК и помощи прибора Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) при помощи Eukaryotic Total RNA 6000 Nano Chip (Agilent Technologies). Количество РНК контролировали с помощью спектрофотометра NanoDrop ND-1000. Очищенную РНК хранили при -80°C.

Исследование дискретной генной экспрессии (DGE) осуществляли для определения набора возможных биомаркеров. Подтверждение биомаркеров осуществляли при помощи ПЦР в реальном времени на планшете COBAS (LC480, ROCHE Diagnostics), для отбора наилучших биомаркеров использовали подходящие биостатистические методы.

РНК обратно транскрибировали в соответствии с протоколом Roche's Diagnostics. Уровни генной экспрессии возможных биомаркеров исследовали при помощи ПЦР в реальном времени.

С помощью DGE анализа было отобрано 169 генов, выделенных из геномной базы данных 119 рандомизированных пациентов.

Для каждого гена с учетом DCt было установлено три предела: средний, Q1 (первый квартиль, P25) и Q3 (третий квартиль, P75). Под "средней DCt" понимается средняя величина DCt у всех тестируемых пациентов. Для каждого предела (ниже предельной величины/выше предельной величины) использовалась многовариантная модель для объяснения различий в общей выживаемости между субпопуляциями, получавшими разное лечение. Если эффект лечения в субпопуляции был значительным ( $p < 5\%$ ), тогда можно сделать вывод, что исследуемый ген оказывает различный эффект на выживаемость в зависимости от лечебной субпопуляции, поэтому указанный ген подвергали дополнительному анализу. Ввиду значимости набора генов указанный ген отбирали независимо от уровня его значимости.

При помощи многовариантного анализа в итоге было отобрано в общей сложности 64 гена с ассоциированными предельными величинами.

Возможные парные генные комбинации указанных 64 генов и их соответствующие предельные величины снова подвергали многовариантному анализу.

Каждую комбинацию классифицировали в соответствии с дискриминационной силой комбинации, определенной при помощи значения  $p$  в критерии Хи-квадрат на модели Сох. Дополнительным критерием для отбора указанной парной генной комбинации было то, что оставшаяся субпопуляция должна включать по крайней мере 40 пациентов (1/3 от общего количества).

Десять отдельных генов, обнаруженных в шести выявленных прогностических факторах генной экспрессии (т.е. пары регулируемых генов со значением  $p < 0,00001$ ), это ACOX-1, TNFRSF10B, RPS23, ABCC3, LYN, HIF1 ALPHA, ABCC1, IGJ, UBE2H и PARP-2.

Уровень экспрессии указанных генов измеряли при помощи количественной ПЦР в реальном времени (количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени или qPCR) с использованием праймеров, которые специфично гибридизуются с кодирующими участками гена.

В случае гена ACOX-1 праймеры амплифицируют последовательность, расположенную на 17 хромосоме между нуклеотидом 73,938,893 и нуклеотидом 73,939,007 (Assembly Feb. 2009 GRCh37/hg19,

UCSC source).

В случае гена TNFRSF10B праймеры амплифицируют последовательность, расположенную на 8 хромосоме между нуклеотидом 22,877,657 и нуклеотидом 22,877,728 (Assembly Feb. 2009 GRCh37/hg19, UCSC source).

В случае гена RPS23 праймеры амплифицируют последовательность, расположенную на 5 хромосоме между нуклеотидом 81,571,951 и нуклеотидом 81,572,049 (Assembly Feb. 2009 GRCh37/hg19, UCSC source).

В случае гена ABCC3 праймеры амплифицируют последовательность, расположенную на 17 хромосоме между нуклеотидом 48,762,132 и нуклеотидом 48,762,221 (Assembly Feb. 2009 GRCh37/hg19, UCSC source).

В случае гена LYN праймеры амплифицируют последовательность, расположенную на 8 хромосоме между нуклеотидом 56,854,522 и нуклеотидом 56,860,210 (Assembly Feb. 2009 GRCh37/hg19, UCSC source).

В случае гена HIF1A праймеры амплифицируют последовательность, расположенную на 14 хромосоме между нуклеотидом 62,214,901 и нуклеотидом 62,214,976 (Assembly Feb. 2009 GRCh37/hg19, UCSC source).

В случае гена ABCC1 праймеры амплифицируют последовательность, расположенную на 16 хромосоме между нуклеотидом 16,177,368 и нуклеотидом 16,180,772 (Assembly Feb. 2009 GRCh37/hg19, UCSC source).

В случае гена IGJ праймеры амплифицируют последовательность, расположенную на 4 хромосоме между нуклеотидом 71,521,360 и нуклеотидом 71,521,432 (Assembly Feb. 2009 GRCh37/hg19, UCSC source).

В случае гена UBE2H праймеры амплифицируют последовательность, расположенную на 7 хромосоме между нуклеотидом 129,470,836 и нуклеотидом 129,470,925 (Assembly Feb. 2009 GRCh37/hg19, UCSC source).

В случае гена PARP-2 праймеры амплифицируют последовательность, расположенную на 14 хромосоме между нуклеотидом 20,825,213 и нуклеотидом 20,825,283 (Assembly Feb. 2009 GRCh37/hg19, UCSC source).

Согласно одному варианту осуществления изобретения следующие праймеры могут использоваться для осуществления количественной ПЦР в реальном времени:

- GAPDH
  - прямой праймер: ATGGGGAAGGTGAAGGTCG (SEQ ID NO:1)
  - обратный праймер: GGGGTCATTGATGGCAACAATA (SEQ ID NO:2)
- B2M
  - прямой праймер: GCTCAGTAAAGACACAACCATCC (SEQ ID NO:3)



- обратный праймер: CATCTGTGGATTCAGCAAACC (SEQ ID NO:4)
- ABCC1
  - прямой праймер: CCAGTGGGGATCGGACAGA (SEQ ID NO:5)
  - обратный праймер: AGGGGATCATCGAAGAGGTAAAT (SEQ ID NO:6)
- ACOX-1
  - прямой праймер: TTTCTTCACTGCAGGGCTTT (SEQ ID NO:7)
  - обратный праймер: GGAAAGGAGGGATTTTGAGC (SEQ ID NO:8)
- HIF1A
  - прямой праймер: TTTTGCTCTTTGTGGTTGGA (SEQ ID NO:9)
  - обратный праймер: CCTGGTCCACAGAAGATGTTT (SEQ ID NO:10)
- IGJ
  - прямой праймер: GGACATAACAGACTTGGAAGCA (SEQ ID NO:11)
  - обратный праймер: TGGCAATTTCTTACACTAACCTGA (SEQ ID NO:12)
- TNFRSF10B
  - прямой праймер: GGTTCATATTTAATTTGGTCATGG (SEQ ID NO:13)
  - обратный праймер: CAAACAAGGAAGCACATTGTGTA (SEQ ID NO:14)
- RPS23
  - прямой праймер: GATTTGGTCGCAAAGGTCAT (SEQ ID NO:15)
  - обратный праймер: TGCCTTTGTATAGGCCAAA (SEQ ID NO:16)
- ABCC3
  - прямой праймер: GGAGGACATTTGGTGGGCTTT (SEQ ID NO:17)
  - обратный праймер: CCCTCTGAGCACTGGAAGTC (SEQ ID NO:18)
- LYN
  - прямой праймер: ATCCAACGTCCAATAAACAGCA (SEQ ID NO:19)
  - обратный праймер: AAGGCTACCACAATGTCTCCT (SEQ ID NO:20)
- PARP2
  - прямой праймер: GGGAAAGGAATCTACTTTGCTG (SEQ ID NO:21)
  - обратный праймер: TTCTTTAGGCGAGAGGCAAA (SEQ ID NO:22)
- UBE2H
  - прямой праймер: CGCAGGTTTTCCACTCATCT (SEQ ID NO:23)
  - обратный праймер: ATGGCCATTTCTTCCCAAG (SEQ ID NO:24)

Название гена	Описание	Идентифицирующая последовательность гена Sequence Id.(Ensembl)	Пример последовательности мРНК Sequence Id (Genbank)
<b>ACOX1</b>	Ацил-КоА оксидаза 1, пальмитоил	ENSG00000161533 (SEQ ID NO:25)	NM_001185039.1 (SEQ ID NO:35) NM_004035.6 (SEQ ID NO:36) NM_007292.5 (SEQ ID NO:37)
<b>TNFRSF10B</b>	Суперсемейство рецепторов фактора некроза опухолей, член 10b	ENSG00000120889 (SEQ ID NO:26)	NM_003842.4 (SEQ ID NO:38) NM_147187.2 (SEQ ID NO:39)
<b>ABCC1</b>	АТФ-связывающая кассета, подсемейство C (CFTR/MRP), член 1	ENSG00000103222 (SEQ ID NO:27)	NM_004996.3 (SEQ ID NO:40)
<b>ABCC3</b>	АТФ-связывающая кассета, подсемейство C (CFTR/MRP), член 3	ENSG00000108846 (SEQ ID NO:28)	NM_001144070.1 (SEQ ID NO:41) NM_003786.3 (SEQ ID NO:42)
<b>HIF1A</b>	Фактор, индуцируемый гипоксией 1, альфа субъединица	ENSG00000100644 (SEQ ID NO:29)	NM_001243084.1 (SEQ ID NO:43) NM_001530.3 (SEQ ID NO:44)
<b>LYN</b>	Гомолог вирусного онкогена саркомы Ямагучи V-yes-1	ENSG00000254087 (SEQ ID NO:34)	NM_001111097.2 (SEQ ID NO:45) NM_002350.3 (SEQ ID NO:46)
<b>IGJ</b>	Полипептид иммуноглобулин J, линкерный белок для иммуноглобулина альфа и ми полипептидов	ENSG00000132465 (SEQ ID NO:30)	NM_144646.3 (SEQ ID NO:47)
<b>UBE2H</b>	Убиквитин-конъюгирующий фермент E2H	ENSG00000186591 (SEQ ID NO:31)	NM_001202498.1 (SEQ ID NO:48) NM_003344.3 (SEQ ID NO:49)
<b>PARP2</b>	Поли(АДФ-рибозо)полимераза 2	ENSG00000129484 (SEQ ID NO:32)	NM_001042618.1 (SEQ ID NO:50) NM_005484.3 (SEQ ID NO:51)
<b>RPS23</b>	Рибосомальный протеин S23	ENSG00000186468 (SEQ ID NO:33)	NM_001025.4 (SEQ ID NO:52)
<b>GAPDH</b>	Глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа	ENSG00000111640	NM_002046 (SEQ ID NO:53) NM_001256799 (SEQ ID NO:54)
<b>B2M</b>	Бета-2 микроглобулин	ENSG00000166710	NM_004048.2 (SEQ ID NO:55)

Два гена, используемые здесь, - это гены B2M и GAPDH.

В случае гена B2M амплифицируемая последовательность находится на 15 хромосоме между нуклеотидами 45,010919 и нуклеотидами 45,010990 (Assembly Feb. 2009 GRch37/hg19, UCSC source).

В случае гена GAPDH амплифицируемая последовательность находится на 12 хромосоме между нуклеотидами 6,643,999 и нуклеотидами 6,645,738 (Assembly Feb. 2009 GRch37/hg19, UCSC source).

Предпочтительно для осуществления количественной ПЦР в реальном времени и синхронной детекции подбирают праймеры, размер (предпочтительно от 80 до 180 нуклеотидов), Tm (температура плавления предпочтительно 60±1°C), GC% (процент нуклеотидов G и C, предпочтительно -60% в 3'), 3' и 5' самокомплементарность и стабильность (предпочтительно не более 4 нуклеотидов), пределы размера продуктов и термодинамические параметры (вторичная эволюция структуры в соответствии с праймером

Tm и концентрация соли натрия).

После идентификации указанных десяти генов и шести прогностических факторов генной экспрессии применяли объединяющую стратегию, чтобы идентифицировать наиболее общий/специфичный профиль генной экспрессии и исключить индивидуальные вариации и отклонения (например, обусловленные ошибками манипуляции с выборкой). Объединение выборки - это метод, который часто используется в эпидемиологии, когда индивидуальные исследования дают слишком мало информации, чтобы сделать какое-либо четкое заключение.

Следовательно, сначала отбирали наиболее важные парные генные комбинации (после чего регистрировали следующую информацию: количество пациентов в субпопуляции, отношение рисков (HZ), р-величина для модели Cox. Затем добавляли вторые наиболее важные парные комбинации генов для увеличения размера выборки и усиления анализа. Регистрировали информацию, указанную выше. Процесс отбора останавливали, когда после добавления новых комбинаций в выборке не оставалось (или оставалось мало) пациентов, с условием, что отношение рисков и/или р-величина сохранялись неизменными (см. пример 2, табл. 5).

Процесс останавливали после отбора шести комбинаций (всего 66 пациентов) с конечным отбором следующих парных генных комбинаций (далее в тексте обозначаемых как "прогностический фактор генной экспрессии", если речь идет об одной комбинации, или "генетический/транскрипционный фингерпринт", если речь идет о всех комбинациях):

одновременная повышающая регуляция генов ACOX-1 и TNFRSF10B с дельта величиной порогового цикла менее или равной 3,05 для ACOX-1 и менее или равной 6,1 для TNFRSF10B (HR=0,19, значение  $p=0,0091$ );

одновременная понижающая регуляция гена RPS23 и повышающая регуляция гена ACOX-1 с дельта величиной порогового цикла пациента больше 0,35 для RPS23 или менее или равной 3,05 для ACOX-1; (HR=0,20, значение  $p=0,00046$ );

одновременная повышающая регуляция генов ABCC3 и LYN с дельта величиной порогового цикла пациента менее или равной 4,3 для ABCC3 и менее или равной 1,65 для LYN (HR=0,19, значение  $p=0,00025$ ).

После идентификации указанных десяти генов и шести прогностических факторов генной экспрессии применяли объединяющую стратегию, чтобы идентифицировать наиболее общий/специфичный профиль генной экспрессии и исключить индивидуальные вариации и отклонения (например, обусловленные ошибками манипуляции с выборкой). Объединение выборки - это метод, который часто используется в эпидемиологии, когда индивидуальные исследования дают слишком мало информации, чтобы сделать какое-либо четкое заключение.

Следовательно, сначала отбирали наиболее важные парные генные комбинации (после чего регистрировали следующую информацию: количество пациентов в субпопуляции, отношение рисков (HZ), р-величина для модели Cox. Затем добавляли вторые наиболее важные парные комбинации генов для увеличения размера выборки и усиления анализа. Регистрировали информацию, указанную выше. Процесс отбора останавливали, когда после добавления новых комбинаций в выборке не оставалось (или оставалось мало) пациентов, с условием, что отношение рисков и/или р-величина сохранялись неизменными (см. пример 2, табл. 5).

Процесс останавливали после отбора шести комбинаций (всего 66 пациентов) с конечным отбором следующих парных генных комбинаций (далее в тексте обозначаемых как "прогностический фактор генной экспрессии", если речь идет об одной комбинации, или "генетический/транскрипционный фингерпринт", если речь идет о всех комбинациях):

одновременная повышающая регуляция генов ACOX-1 и TNFRSF10B с дельта величиной порогового цикла менее или равной 3,05 для ACOX-1 и менее или равной 6,1 для TNFRSF10B (HR=0,19, значение  $p=0,0091$ );

одновременная понижающая регуляция гена RPS23 и повышающая регуляция гена ACOX-1 с дельта величиной порогового цикла пациента больше 0,35 для RPS23 или менее или равной 3,05 для ACOX-1; (HR = 0,20, значение  $p = 0,00046$ );

одновременная повышающая регуляция генов ABCC3 и LYN с дельта величиной порогового цикла пациента менее или равной 4,3 для ABCC3 и менее или равной 1,65 для LYN (HR=0,19, значение  $p=0,00025$ );

одновременная повышающая регуляция генов HIF1 и TNFRSF10B с дельта величиной порогового цикла пациента менее или равной 3,95 для HIF1 и менее или равной 5,65 для TNFRSF10B (HR=0,19, значение  $p=0,00013$ );

одновременная понижающая регуляция гена ABCC1 и повышающая регуляция гена IGJ с дельта величиной порогового цикла пациента более 3,5 для ABCC1 и менее или равной 7,05 для IGJ (FIR=0,19, значение  $p=0,00011$ );

одновременная понижающая регуляция генов UBE2H и PARP-2 с дельта величиной порогового цикла пациента более 3,7 для UBE2H и более 7,1 для PARP-2 (HR=0,192, значение  $p=0,000004$ ).

Необходимо отметить, что незначительные модификации указанных выше пределов включены в

настоящее описание (например,  $\pm 10$  или даже  $\pm 25\%$  от указанных пороговых значений), чтобы отразить тот факт, что оптимальный порог может находиться в непосредственной близости к тестируемым пределам и что выборка пациентов является репрезентативной для всей популяции раковых больных.

OS анализировали в субпопуляции, идентифицированной как субпопуляция носителей по крайней мере одного прогностического фактора генной экспрессии, далее в тексте указанная субпопуляция обозначается как субпопуляция с "генетическим фингерпринтом" или "транскрипционным фингерпринтом" (65 пациентов), а также в противоположной субпопуляции, т.е. в субпопуляции пациентов, не имеющих какого-либо прогностического фактора генной экспрессии, далее в тексте указанная субпопуляция пациентов обозначается как субпопуляция без "генетического фингерпринта" или "транскрипционного фингерпринта" (53 пациента). Анализ субпопуляции с "генетическим фингерпринтом" показал, что пациенты, получавшие лечение маситинибом в комбинации с гемцитабином, имели среднюю OS 12,9 месяцев по сравнению с 4,7 месяцами для субпопуляции пациентов, получавших плацебо + гемцитабин (многовариантный анализ). После поправки на различия в исходных критериях различия в средней OS оказались статистически значимыми (значение  $p < 0,000001$ ) с отношением рисков для смерти (определенным как вероятность смерти при лечении комбинацией маситиниб + гемцитабин к вероятности смерти при лечении плацебо + гемцитабин) 0,17 с 95% доверительным интервалом [0,09; 0,34]. Следовательно, для пациентов, несущих по крайней мере один указанный выше прогностический фактор генной экспрессии и относящихся к субпопуляции пациентов с "генетическим фингерпринтом" при лечении комбинацией маситиниб + гемцитабин, риск смерти на 83% ниже, чем у пациентов, получавших лечение только гемцитабином. Если рассматривать худший вариант границ высокого доверительного интервала, т.е. 0,34, риск смерти для пациентов в субпопуляции с "генетическим фингерпринтом" все равно снижался на 66% при лечении комбинацией маситиниб + гемцитабин. Оценка выживаемости по методу Каплана-Мейера для субпопуляции с "генетическим фингерпринтом" четко показала, что вероятность выживаемости пациентов в этой субпопуляции неуклонно выше и составляет от 6 до 24 месяцев, что обусловлено использованием для лечения комбинации маситиниб + гемцитабин; при сравнении результатов для субпопуляции, получавшей только гемцитабин (см. пример 2, фиг. 7).

В противоположность этому, анализ субпопуляции без "генетического фингерпринта" показал, что средняя OS в субпопуляции, получавшей маситиниб и гемцитабин, составляла 5,6 месяцев по сравнению с 13,2 месяцами в субпопуляции, получавшей плацебо + гемцитабин (многовариантный анализ). Такие различия в средней общей выживаемости были статистически значимыми (значение  $p = 0,000036$ ) с отношением рисков для смерти (определенным как вероятность смерти при лечении комбинацией маситиниб + гемцитабин к вероятности смерти при лечении плацебо + гемцитабин) 4,24 с 95% доверительным интервалом [2,11; 8,52] в многовариантной модели (см. пример 2, фиг. 8). Следовательно, риск смерти для пациентов, не несущих какого-либо по крайней мере одного прогностического фактора генной экспрессии, упомянутого выше, выше при лечении комбинацией маситиниб + гемцитабин, чем при лечении только гемцитабином. Следовательно, такое лечение любого пациента из субпопуляции без "генетического фингерпринта" при отсутствии какого-либо другого положительного прогностического фактора является нецелесообразным.

Было отмечено, что не существует корреляции между данными генома и исходным баллом интенсивности боли по ВАШ, т.е. с прогностическим фактором интенсивности боли. Это было верно для общей геномной популяции (119 пациентов), для субпопуляции с "генетическим фингерпринтом" и субпопуляции без "генетического фингерпринта". В связи с настоящим изобретением авторы изобретения полагают, что прогностические факторы интенсивности боли и генной экспрессии ассоциированы с независимыми механизмами прогрессирования заболевания. Следовательно, лечение маситинибом имеет терапевтическое преимущество у пациентов, позитивных по одному прогностическому фактору, но негативных по другому; т.е. никакого противоречия не существует.

Если рассматривать генную экспрессию как независимый прогностический фактор, организационный план лечения представляет собой простой выбор между использованием маситиниба, возможно в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом, у тех пациентов, которые были идентифицированы как имеющие соответствующий генетический фингерпринт, и не использованием маситиниба у пациентов, не имеющих указанного генетического фингерпринта. Организационный план лечения с учетом прогностического фактора боли является более сложным и должен учитывать различные пределы интенсивности боли и существующие режимы лечения. Таким образом, в соответствии с одним вариантом осуществления изобретения открытие специфических и независимых прогностических факторов привело авторов изобретения к созданию нового организационного плана лечения пациентов с раком поджелудочной железы в соответствии со схемой, представленной на фиг. 3.

Таким образом, согласно первому варианту своего осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения рака у человека, при котором пациенту, нуждающемуся в подобном лечении, вводится ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток или c-Kit ингибитор, в частности маситиниб или его фармацевтически приемлемая соль, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом.

Соединение, заявленное в соответствии с настоящим изобретением, и по крайней мере один проти-

воопухолевый агент могут вводиться отдельно, одновременно или последовательно.

В соответствии с одним из вариантов осуществления изобретения указанный ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток или с-Kit ингибитор, в частности маситиниб или его фармацевтически приемлемая соль, вводятся в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом для лечения рака; при этом указанный пациент ранее не получал лечения указанным противоопухолевым агентом или отвечает на лечение указанным по крайней мере одним противоопухолевым агентом.

Согласно другому варианту осуществления изобретения указанный ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток или с-Kit ингибитор, в частности маситиниб или его фармацевтически приемлемая соль, вводятся в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом для лечения рака; при этом указанный пациент трудно поддается лечению указанным по крайней мере одним противоопухолевым агентом или является невосприимчивым к указанному по крайней мере одному противоопухолевому агенту.

Настоящее изобретение также относится к ингибитору тирозинкиназы, ингибитору тучных клеток или с-Kit ингибитору, как описано выше, в частности к маситинибу, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом, предназначенному для использования в качестве лекарственного средства или в составе фармацевтической композиции для метода, описанного выше.

Настоящее изобретение также относится к набору, включающему по крайней мере ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток и с-Kit ингибитор, как описано выше, в частности маситиниб, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом, для использования в соответствии со способом лечения рака, определенным в настоящем описании и примерах.

Согласно одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, определенному выше, при этом ингибитор тирозинкиназы или ингибитор тучных клеток представляет собой ингибитор киназной активности ферментов, выбранных из следующей группы тирозинкиназ: с-Kit, PDGFR, Lyn, Fyn и DDR1.

Согласно другому варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при этом указанный пациент изначально отобран для лечения на основании прогностического фактора интенсивности боли.

Таким образом, согласно одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения рака, ассоциированного с болевым синдромом, требующим применения опиоидных анальгетиков, для купирования указанного болевого синдрома, у человека, при этом ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток или с-Kit ингибитор, в частности маситиниб или его фармацевтически приемлемая соль, вводятся пациенту, нуждающемуся в подобном лечении, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом.

Согласно другому варианту осуществления изобретения указанный пациент относится к субпопуляции пациентов, которым показано указанное лечение, в том случае, если указанный пациент хотя бы однократно сообщает о наличии болевого синдрома, обусловленного заболеванием, с ненулевой интенсивностью боли согласно визуальной аналоговой шкале (ВАШ) и другому эквивалентному инструменту измерения интенсивности боли.

Согласно еще одному варианту осуществления изобретения указанный пациент относится к субпопуляции пациентов, которым показано указанное лечение, в том случае, если указанный пациент хотя бы однократно сообщает о наличии болевого синдрома, обусловленного заболеванием, с интенсивностью боли более 5 (например, ВАШ >5 мм при измерении на 100 мм линейке, или 5%); или с интенсивностью боли по ВАШ более 10 (например, ВАШ >10 мм при измерении на 100 мм линейке, или 10%); или даже с интенсивностью боли по ВАШ более 20 (например, ВАШ >20 мм при измерении на 100 мм линейке, или 20%).

Согласно другому варианту осуществления изобретения указанный пациент относится к субпопуляции пациентов, которым показано указанное лечение, в том случае, если указанный пациент хотя бы однократно сообщает о наличии болевого синдрома, обусловленного заболеванием, с интенсивностью боли, эквивалентной интенсивности >20 по ВАШ, но измеренной при помощи другой шкалы. Указанные пациенты также рассматриваются как пациенты, относящиеся к субпопуляции, которой показано заявленное лечение, в том случае, если имеется хотя бы однократное сообщение о наличии болевого синдрома, обусловленного заболеванием, с умеренной или выраженной интенсивностью боли.

Согласно одному из вариантов осуществления изобретения интенсивность болевого синдрома в каждом конкретном случае определяется и оценивается, как описано выше.

Согласно другому варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при этом указанный пациент страдает от рака поджелудочной железы, ассоциированного с болевым синдромом или требующего применения опиоидных анальгетиков для купирования указанного болевого синдрома, при этом наличие "боли" определяется по наличию хотя бы одного сообщения пациента о наличии боли с интенсивностью более 20 по ВАШ (например, ВАШ >20 мм при измерении на 100 мм линейке, или 20%).

Согласно одному из вариантов осуществления изобретения лечение указанного пациента считается нецелесообразным в том случае, если при отсутствии какого-либо другого независимого прогностиче-

ского фактора у пациента нет обусловленного заболеванием болевого синдрома и не требуется введение опиоидных анальгетиков для купирования такого болевого синдрома. Предпочтительной солью маситиниба является маситиниб мезилат.

Согласно другому варианту осуществления изобретения заявленное соединение вводится в суточной дозе, составляющей от 4,5 до 12,0 мг/кг в день, с предпочтительной начальной суточной дозой, составляющей от 6,0 до 7,5 мг/кг в день.

Необязательно, доза увеличивается с 1,5 мг/кг в день до достижения максимальной дозы, составляющей 12 мг/кг в день.

Необязательно, доза уменьшается с 1,5 мг/кг в день до достижения минимальной дозы, составляющей 4,5 мг/кг в день.

Подбор дозы может рассматриваться как динамический процесс, при этом доза может многократно повышаться или понижаться, чтобы оптимизировать баланс между ответом на лечение и токсичностью, при этом оба указанных фактора с большой долей вероятности будут изменяться с течением времени и длительностью воздействия лекарства. Если происходит увеличение дозы, предполагается, что стартовая доза, составляющая 6,0 мг/кг в день, будет повышаться с шагом 1-2 мг/кг в день до достижения максимальной дозы, составляющей 12 мг/кг в день, в течение периода времени, продолжительность которого зависит от клинических наблюдений. Например, повышение дозы указанного ингибитора тирозинкиназы, ингибитора тучных клеток или с-Kit ингибитора, в частности маситиниба или его фармацевтически приемлемой соли, предпочтительно маситиниб мезилата, может занимать от 1 до 2 месяцев. Также предусматривается, что для получения всех терапевтических преимуществ дозы, оптимизированной для конкретного пациента, повышение дозы указанного ингибитора тирозинкиназы, ингибитора тучных клеток и с-Kit ингибитора должно осуществляться с шагом менее 1-2 мг/кг в день. Уменьшение дозы следует рассматривать как способ снижения токсичности в соответствующих ситуациях. Любая доза, определенная в описании, относится к количеству активного ингредиента самого по себе, не в форме соли.

Учитывая, что доза маситиниба в мг/кг в день, указанная в описанных режимах дозирования, относится к количеству активного ингредиента маситиниба, использование композиционных вариантов фармацевтически приемлемой соли маситиниб мезилата не потребует изменения режима дозирования.

Соединение, заявленное в соответствии с настоящим изобретением, предпочтительно вводится перорально.

Соединение, заявленное в соответствии с настоящим изобретением, предпочтительно вводится дважды в день.

Преимущественно использование заявленного способа включает длительное введение эффективного количества указанного ингибитора тирозинкиназы, ингибитора тучных клеток и с-Kit ингибитора, в частности маситиниба или его фармацевтически приемлемой соли, более трех месяцев, предпочтительно более шести месяцев.

Согласно одному предпочтительному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способу, как определено выше, при этом указанный ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток и с-Kit ингибитор, в частности маситиниб или его фармацевтически приемлемая соль, вводится для лечения неоперабельной распространенной или метастатической аденокарциномы поджелудочной железы, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом; при этом указанный пациент нуждается в подобном лечении, что было определено на основании прогностического фактора либо генной экспрессии, либо интенсивности боли.

Указанный по крайней мере один противоопухолевый агент может представлять собой лекарственное средство для лечения рака и предпочтительно выбран из группы, включающей гемцитабин (Gemzar®; Lilly), эрлотиниб (Tarceva®; Roche), паклитаксель (Taxol®, Abraxane®; Bristol-Myers Squibb); Folfirinox, 5-фторурацил (5-FU), капецитабин, цисплатин, оксалиплатин, иринотекан, лейковорин и любую комбинацию указанных средств.

Согласно одному из вариантов осуществления изобретение также относится к способу лечения рака поджелудочной железы, при котором ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток и с-Kit ингибитор, в частности маситиниб или его фармацевтически приемлемая соль, вводится, возможно, в комбинации с гемцитабином.

Что касается режима дозирования, в зависимости от возраста, индивидуальных особенностей, способа введения и общего состояния пациента, эффективные дозы указанного ингибитора тирозинкиназы, ингибитора тучных клеток и с-Kit ингибитора, в частности маситиниба или его фармацевтически приемлемой соли, у человека с раком поджелудочной железы составляют от 4,5 до 9,0 мг/кг в день перорально и принимаются предпочтительно дважды в день. Для взрослых людей, страдающих раком поджелудочной железы, начальная доза указанного ингибитора тирозинкиназы, ингибитора тучных клеток и с-Kit ингибитора, в частности маситиниба или его фармацевтически приемлемой соли, составляющая от 6,0 до 7,5 мг/кг в день, как было показано, является предпочтительной. Для пациентов с неадекватным ответом на лечение (после оценки указанного ответа на лечение при отсутствии лимитированной токсичности) увеличение дозы указанного ингибитора тирозинкиназы, ингибитора тучных клеток и с-Kit ингибитора, в частности маситиниба или его фармацевтически приемлемой соли, до 9,0 мг/кг в день может считаться

безопасным, лечение продолжают до тех пор, пока наблюдается эффект от него при отсутствии лимитирующей токсичности. Для пациентов, у которых отмечается обусловленная лечением токсичность, доза указанного ингибитора тирозинкиназы, ингибитора тучных клеток и c-Kit ингибитора, в частности маситиниба или его фармацевтически приемлемой соли, может снижаться с шагом в 1,5 мг/кг в день до минимальной дозы, составляющей 4,5 мг/кг в день, для плохо переносящих лечение пациентов; лечение продолжают до тех пор, пока наблюдается эффект от него при отсутствии лимитирующей токсичности. Согласно другому варианту осуществления изобретения указанный ингибитор тирозинкиназы, ингибитор тучных клеток и c-Kit ингибитор, в частности маситиниб или его фармацевтически приемлемая соль, вводятся в начальной дозе, составляющей от 6,0 до 7,5 мг/кг в день, а гемцитабин вводится сначала в стартовом режиме в недельной дозе  $1000 \pm 250$  мг/м<sup>2</sup> поверхности тела пациента в течение почти семи последовательных недель (от 3 до 7 недель), после чего следует перерыв в одну неделю, после которого лечение возобновляют в недельной дозе  $1000 \pm 250$  мг/м<sup>2</sup> на три недели и повторяют каждые 28 дней.

Настоящее изобретение предусматривает незначительные изменения режима дозирования. Например, "каждые 28 дней" означает, что один цикл включает три недели лечения и одну неделю перерыва в лечении.

Согласно одному из вариантов осуществления изобретения заявленная композиция представляет собой композицию для перорального введения.

Специалистам в данной области известно, что в зависимости от предполагаемого способа введения могут использоваться различные эксципиенты, а некоторые из них могут усиливать эффективность активной молекулы, например, за счет улучшения профиля высвобождения указанной активной молекулы, что в целом увеличивает эффективность лечения.

Фармацевтические композиции, заявленные в соответствии с настоящим изобретением, таким образом, могут быть представлены в различных формах в зависимости от способа введения, в частности заявленные композиции могут быть представлены в инъекционных, распыляемых или проглатываемых формах, и вводиться, например, внутримышечно, внутривенно, подкожно, внутрикожно, перорально, местно, ректально, вагинально, офтальмологически, назально, трансдермально или парентерально. Предпочтительным способом введения является пероральное введение. Настоящее изобретение также включает использование заявленного соединения для создания фармацевтической композиции.

Заявленное лекарственное средство может принимать форму фармацевтической композиции, адаптированной для перорального введения, которая может быть изготовлена с использованием фармацевтически приемлемых носителей в подходящих количествах, хорошо известных из области техники. Такие носители позволяют получить фармацевтические композиции в форме таблеток, пилей, драже, капсул, жидкостей, гелей, сиропов, суспензий, взвесей и пр. форм, предназначенных для проглатывания пациентом. Помимо активных ингредиентов, указанные фармацевтические композиции могут содержать подходящие фармацевтически приемлемые носители, включающие эксципиенты и другие вспомогательные вещества, обеспечивающие создание лекарственных препаратов на основе активных ингредиентов для фармакологического использования. Дополнительные детали методик получения и введения фармацевтических композиций можно найти в последнем издании Remington's Pharmaceutical Sciences (Maack Publishing Co., Easton, Pa.).

### Перечень фигур

Фиг. 1. Отношение рисков для смерти против баллов по ВАШ в многовариантном анализе.

Фиг. 2. Пример шкалы ВАШ и инструкции для пользователя.

Фиг. 3. План лечения, основанный на определении прогностических факторов интенсивности боли и генной экспрессии.

Фиг. 4. Оценка вероятности выживаемости для "болевого" субпопуляции (многовариантный анализ).

Фиг. 5. Оценка вероятности выживаемости для "безболевого, безморфиновой" субпопуляции (многовариантный анализ).

Фиг. 6. Оценка выживаемости по методу Каплана-Мейера для "болевого субпопуляции с интенсивностью боли ниже средней".

Фиг. 7. Вероятность выживаемости для субпопуляции с "генетическим фингерпринтом" (многовариантный анализ).

Фиг. 8. Вероятность выживаемости для субпопуляции без "генетического фингерпринта" (многовариантный анализ).

Настоящее изобретение дополнительно иллюстрируется представленными ниже примерами.

Пример 1. Рандомизированное, плацебо-контролируемое клиническое исследование 3 фазы для оценки эффективности и безопасности маситиниба в комбинации с гемцитабином для лечения пациентов с распространенным/метастатическим раком поджелудочной железы.

План оценки эффективности и безопасности маситиниба в комбинации с гемцитабином, которая проводилась AB Science, в этом случае был основан на следующем клиническом исследовании: Исследование AB07012 "Проспективное, многоцентровое, рандомизированное, двойное-слепое, плацебо-контролируемое клиническое исследование 3 фазы в двух параллельных субпопуляциях для сравнения

эффективности и безопасности маситиниба в дозе 9 мг/кг в день в комбинации с гемцитабином, и плацебо в комбинации с гемцитабином, в лечении пациентов с распространенным/метастатическим раком поджелудочной железы". Описание популяции исследования AB07012 ITT-популяция (от англ. Intent-to-Treat) или популяция пациентов, отобранных для лечения, определяется как все рандомизированные пациенты, независимо от того получали ли они лечение или нет. Модифицированная ITT популяция (mITT) включала всех ITT пациентов, за исключением пациентов, досрочно исключенных из исследования по не связанным с лечением, хорошо документированным причинам. ITT популяция исследования AB07012 включала 353 пациента, которые были приглашены в исследование с 11 ноября 2008 г. по 6 июля 2010 г. (включен последний пациент): 175 пациентов были отнесены к субпопуляции, получавшей маситиниб + гемцитабин, и 178 были отнесены к субпопуляции, получавшей плацебо + гемцитабин. Клиническую эффективность анализировали в mITT популяции, которая в итоге представляла собой ITT популяцию, за исключением пяти пациентов. Два пациента из субпопуляции, получавшей маситиниб + гемцитабин, не получали ни маситиниб, ни гемцитабин. Из двух пациентов из субпопуляции гемцитабин плюс плацебо один не получал ни плацебо, ни гемцитабина, а другой получал только гемцитабин, без плацебо. Пятый пациент, подлежащий исключению, должен был быть включен в субпопуляцию плацебо + гемцитабин, но при более подробном обследовании было установлено отсутствие у него рака поджелудочной железы.

Таким образом, mITT популяция включала 348 пациентов:

173 пациента, получавшие маситиниб + гемцитабин;

175 пациентов, получавших плацебо + гемцитабин.

Описание популяций, в которых проводился анализ клинической эффективности на основании прогностического фактора интенсивности боли.

На основе анализа исходных данных, типа лечения и эффективности были выявлены три следующие популяции:

"Болевые" пациенты с болевым синдромом, обусловленным заболеванием, который был определен при помощи визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) с интенсивностью боли  $>20$  ( $N=137$ ; 64 и 73 пациента в субпопуляции, получавшей маситиниб + гемцитабин, в субпопуляции, получавшей плацебо + гемцитабин, соответственно);

"Безболевая, безморфиновая" субпопуляция пациентов с болевым синдромом, обусловленным заболеванием, с баллом по ВАШ [0-5], не требующим введения опиоидных анальгетиков ( $N=68$ : 34 пациента в субпопуляции, получавшей маситиниб + гемцитабин, и 34 пациента в субпопуляции, получавшей плацебо + гемцитабин);

"Боль ниже среднего": все остальные пациенты, не принадлежащие ни к "болевым", ни к "безболевым, безморфиновым" субпопуляциям ( $N=107$ ; 57 и 50 пациентов в субпопуляции, получавшей маситиниб + гемцитабин, и в субпопуляции, получавшей плацебо + гемцитабин, соответственно).

"Болевая" субпопуляция, как определено выше, была выделена на основании следующих критериев:

при помощи многовариантного анализа общей выживаемости в исследовании AB07012 интенсивность боли была идентифицирована как основной фактор (переменный), влияющий на общую выживаемость. Кроме того, была обнаружена взаимосвязь между вариабельностью интенсивности боли и комбинированной терапией, применявшейся у пациентов;

результаты, полученные в исследовании AB07012, касающиеся общей выживаемости, показали, что лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин существенно увеличивало общую выживаемость пациентов с раком поджелудочной железы, ассоциированным с болевым синдромом с интенсивностью боли  $>20$  по ВАШ, по сравнению с лечением плацебо + гемцитабин;

результаты, касающиеся общей выживаемости, показали, что OS снижалась в субпопуляции, получавшей плацебо + гемцитабин, с увеличением интенсивности боли;

интенсивность боли по ВАШ, равная 20 мм, соответствовала началу фазы плато (или горизонтальной асимптоты) в отношении рисков для смерти;

в аналогичном исследовании лечения рака поджелудочной железы, проведенным Moore и соавт., интенсивность боли по ВАШ, равная 20 мм, расценивалась как предел оценки интенсивности боли по ВАШ. В этом исследовании не было показано какого-либо преимущества от использования комбинации эрлотиниб плюс гемцитабин в отношении общей выживаемости пациентов по сравнению с пациентами, получавшими плацебо + гемцитабин с интенсивностью боли по ВАШ  $>20$ ; отношение рисков 1,00 (95% CI [0,78; 1,27]) [Moore M.J., et al., J. Clin. Oncol. 2007, 25(15):1960-6];

в научной литературе в нескольких других публикациях были представлены клинические результаты, включая баллы по ВАШ с пределом в 20 мм [Marineo G. J. Pancreas 2003; 4(1):1-10; Zaza C., et al., J. Pain Symptom Manage, 2002; 24:526-542].

Клиническая эффективность оценивалась через анализ общей выживаемости (OS) в общей популяции и в трех субпопуляциях в зависимости от интенсивности боли, как определено выше. Интенсивность боли оценивалась при помощи визуальной аналоговой шкалы, линейной шкалы, которая дает наглядное представление об амплитуде боли, испытываемой пациентом. Амплитуда была представлена 100 мм ли-



нейкой без каких-либо отметок. Один конец обозначает отсутствие боли (0 величина), а другой конец - худшую боль, которую только можно представить (величина 100). На практике, перед началом исследуемого лечения (т.е. в исходной точке) каждого пациента попросили отметить уровень интенсивности боли, которую они ощущают, вертикальной линией на линейке ВАШ. Считалось, что пациент, не страдающий от болевого синдрома или испытывающий умеренную боль, нарисует вертикальную линию между 0 и 5 на линейке ВАШ.

Анализ общей выживаемости для исследования AB07012.

Общая выживаемость была первичной конечной точкой этого исследования. OS измеряли от начала даты рандомизации до даты документированной смерти. Если смерть не происходила, данные по OS оценивали по последней известной дате, на момент которой пациент был жив. OS исследовали при каждой исходной характеристике при помощи однофакторного анализа у пациентов, получавших лечение плацебо + гемцитабин, чтобы определить переменные факторы, которые могут влиять на общую выживаемость независимо от лечения. Основные различия в результатах относительно OS (статистическая значимость 5%, данные не представлены) наблюдались в следующих исходных характеристиках: шкала ВАШ для измерения интенсивности боли; местно распространенный/метастатический рак; уровень альбумина (нормальный/аномальный) и локализация первичной опухоли в теле поджелудочной железы. Основным параметром, оказывающим наибольшее влияние на общую выживаемость, оказалась интенсивность боли. Хотя и раньше сообщалось, что болевой синдром, обусловленный заболеванием, взаимосвязан с общей выживаемостью, до настоящего времени не было продемонстрировано, что он является наиболее важным фактором для общей выживаемости. Таким образом, влияние интенсивности боли на общую выживаемость пациентов с раком поджелудочной железы считается основным открытием. Поскольку было показано четкое влияние указанных переменных факторов, в частности интенсивности боли, на общую выживаемость пациентов, получавших лечение комбинацией плацебо + гемцитабин, ожидалось, что любые различия в исходных характеристиках между двумя лечебными субпопуляциями также будут влиять на общую выживаемость. Однофакторная модель не является подходящей, даже при расслаивании на две переменные (здесь, страна или метастатический/местно распространенный рак), поэтому она была заменена многофакторной моделью Сох, чтобы определить эффект комбинированного лечения на общую выживаемость. Результаты, полученные при помощи многофакторного Сох анализа общей выживаемости, представлены ниже для общей популяции, а также для трех субпопуляций, разделенных в соответствии с интенсивностью боли по ВАШ ("болевая", "безболевая, безморфиновая" и "боль с интенсивностью ниже средней").

Многофакторный анализ общей выживаемости для определения прогностического фактора интенсивности боли.

Влияние каждого переменного фактора на общую выживаемость и эффективность лечения исследовали при помощи многофакторной модели, в которой переменные были отобраны посредством пошаговой процедуры с использованием 5% пороговых значений как для включения, так и для сохранения переменных. Конечная многофакторная модель включала следующие факторы:

лечебная субпопуляция независимо от уровня значимости;

факторы, выбранные при помощи "пошаговой" многовариантной модели: местно распространенный/метастатический рак, локализация первичной опухоли в теле поджелудочной железы, уровень альбумина (нормальный/аномальный), а также оценка интенсивности боли по ВАШ, в соответствии с которой были выделены три субпопуляции пациентов (как определено выше);

взаимодействия подтверждали графически при помощи метода Каплан-Мейера (по лечебным субпопуляциям и фактору модальности).

В табл. 2 обобщены все статистически значимые переменные факторы, установленные при помощи многофакторного анализа Сох для общей популяции.

Таблица 2

Анализ и разработка многофакторной модели Сох,  
включая лечебную субпопуляцию в общей популяции

	Однофакторная Сох модель		Многофакторная пошаговая 5% модель отбора Сох	Конечная Многофакторная Сох модель с лечебной субпопуляцией	
	Отношение рисков [95% CI]	$\chi^2$ р- величина	$\chi^2$ р- величина	Отношение рисков [95% CI]	$\chi^2$ р- величина
Лечебная субпопуляция (маситиниб/ плацебо)	1,01 [0,81;1,26]	0,922	не выбрано	0,89 [0,70;1,13]	0,344
Пол (мужской/ Женский)	0,79 [0,63;0,99]	0,040	не выбрано		
Возраст (>65 лет, Да/Нет)	1,01 [0,81;1,27]	0,928	не выбрано		
Метастатическая /Местно распространенная опухоль	1,55 [1,11;2,17]	0,010	0,018	1,55 [1,09; 2,22]	0,16
ECOG (1/0)	1,60 [1,27;2,02]	<0,001	не выбрано		
Страна (Франция Да/Нет)	0,74 [0,59;0,94]	0,011	не выбрано		
Боль по ВАШ (мм) – непрерывная переменная	1,01 [1,00;1,01]	0,001	не выбрано		
Боль по ВАШ – по классу ([0;5];[5;20];>20)	1,69 [1,29;2,23] (>20 против [0;5])	<0,001	<0,001	2,00 [1,50; 2,66] (>20 против [0;5])	<0,001*
Клинически значимый СА 19-9 (Да/Нет)	1,19 [0,91;1,55]	0,196	не выбрано		
Метастазы в печень (Да/Нет)	1,35 [1,06;1,72]	0,013	не выбрано		
Метастазы в лимфатические узлы (Да/Нет)	1,39 [1,06;1,72]	0,022	не выбрано		
Вес (>65 кг, Да/Нет)	1,03 [0,83;1,29]	0,790	не выбрано		
Локализация в головке железы (Да/Нет)	0,99 [0,79;1,23]	0,903	не выбрано		
Локализация в теле железы (Да/Нет)	0,84 [0,66;1,06]	0,148	0,026	0,74 [0,57; 0,96]	0,021
Локализация в хвосте железы (Да/Нет)	1,10 [0,87;1,41]	0,424	не выбрано		
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> ) – непрерывная переменная	1,00 [0,98;1,02]	0,959	не выбрано		
Гамма GT (нормальная/ аномальная)	0,69 [0,53;0,91]	0,007	не выбрано		
Альбумин (нормальный/аномальный)	0,29 [0,20;0,42]	<0,001	<0,001	0,29 [0,20;0,44]	<0,001*

Существенная взаимосвязь с лечением:  $p=0,008$ .

Результаты, полученные при использовании указанной многофакторной модели, показали отсутствие влияния на выживаемость комбинированного лечения в общей популяции, но выявили существенное влияние четырех переменных: интенсивность боли ( $p<0,001$ ), уровень альбумина ( $p<0,001$ ), классификация опухоли как метастатической или местно распространенной ( $p=0,016$ ) и локализация первичной опухоли в теле поджелудочной железы ( $p=0,021$ ). Эти переменные затем были сохранены в многофакторной модели для OS. Эти данные позволили сделать открытие, что интенсивность боли в соответствии с установленными ВАШ субпопуляциями пациентов исходно является критическим переменным фактором с

существенным влиянием на OS пациентов с раком поджелудочной железы. Затем осуществляли многофакторный анализ в субпопуляциях пациентов, разделенных в соответствии с исходной интенсивностью боли по ВАШ, после чего осуществляли процедуру, аналогичную проведенной для общей популяции. В табл. 3 обобщены результаты многовариантного анализа для OS в общей популяции и в каждой из трех субпопуляций в соответствии с интенсивностью боли по ВАШ.

Результаты многофакторного анализа подтвердили, что пациенты, получавшие лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин, не имели какого-либо статистически значимого преимущества в отношении выживаемости по сравнению с пациентами, получавшими лечение комбинацией плацебо + гемцитабин в общей популяции. На основании открытия, что исходная интенсивность боли сильно коррелирует с OS, этот параметр изучали дополнительно, чтобы определить, существует ли какая-либо взаимосвязь между указанной переменной, типом комбинированного лечения и общей выживаемостью; т.е. OS как функция интенсивности боли по ВАШ была проанализирована для обеих лечебных субпопуляций (маситиниб против плацебо). Близкие кривые будут означать отсутствие взаимосвязи между двумя переменными, в то время как расходящиеся кривые будут указывать на наличие взаимосвязи. Была выявлена существенная и сильная взаимосвязь между баллом по ВАШ, отражающим интенсивность боли, и типом комбинированного лечения, что доказывает величина  $p$ , составляющая 0,010 для "болевого" субпопуляции пациентов и 0,041 для "безболевого, безморфиновой" субпопуляции пациентов (табл. 3). Графическое подтверждение взаимосвязей показало, что средняя OS у пациентов с ВАШ баллом  $>20$  была ниже в субпопуляции, получавшей плацебо + гемцитабин, по сравнению с субпопуляцией, получавшей маситиниб + гемцитабин; отношение рисков 0,61 (95% CI [0,42; 0,88]) (фиг. 4). В противоположность этому, средняя OS у пациентов с ВАШ баллом [0; 5] (т.е. пациентов из "безболевого, безморфиновой" субпопуляции) была выше в субпопуляции, получавшей лечение комбинацией плацебо + гемцитабин, по сравнению с субпопуляцией, получавшей маситиниб + гемцитабин; отношение рисков 1,63 (95% CI [0,94; 2,85]) (фиг. 5). Это подчеркивает ключевое значение переменной интенсивности боли при анализе OS пациентов с раком.

В общей популяции многофакторный анализ общей выживаемости показал отсутствие существенного влияния типа комбинированного лечения на OS с величиной  $p$ , равной 0,740, и отношением рисков для смерти 0,90 с интервалом достоверности 95% (95% CI [0,71; 1,14]). Средняя OS составила 7,7 месяцев (95% CI [6,1; 10,6]) у пациентов, получавших комбинированное лечение маситинибом и гемцитабином, и 7,0 месяцев (95% CI [5,8; 9,6]) у пациентов, получавших плацебо + гемцитабин, соответственно. Общий процент выживших пациентов на 6, 12, 18 и 24 месяц составил соответственно 59,2, 32,1, 17,3 и 9,5% среди пациентов, получавших лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин, против 56,0, 28,5, 14,5 и 7,5% среди пациентов, получавших лечение комбинацией плацебо + гемцитабин.

Таблица 3

Результаты в отношении общей выживаемости,  
полученные после многофакторного анализа общей популяции и  
в каждой из трех субпопуляций с различной исходной  
интенсивностью боли по ВАШ

	Лечение	N	Величина $p^*$	Отношение рисков [95%CI]	Средняя OS (мес)	Процент OS (месяцы) [95%CI]			
						M6	M12	M18	M24
Общая Популяция	M + G	173	0,740	0,90 [0,71;1,14]	7,7 [6,1; 10,6]	59,2 [51,2; 69,3]	32,1 [24,1; 43,4]	17,3 [11,2; 27,3]	9,5 [5,2; 17,7]
	P + G	175			7,0 [5,8; 9,6]	56,0 [47,9; 66,4]	28,5 [21,0; 39,5]	14,5 [9,1; 23,7]	7,5 [3,9; 14,8]
"Болевая"	M + G	64	0,010	0,61 [0,42;0,88]	8,1 [5,9; 11,5]	58,2 [48,5; 71,7]	32,2 [22,2; 47,9]	18,2 [10,4; 32,9]	$\leq 6,4^*$
	P + G	73			5,4 [4,5; 8,0]	43,9 [33,7; 58,7]	17,8 [10,5; 31,3]	7,8 [3,6; 18,0]	$\leq 2,0^*$
"Безболевая, безморфиновая"	M + G	34	0,041	1,63 [0,94;2,85]	11,4 [7,2; 22,2]	71,1 [56,5; 89,8]	46,9 [30,2; 74,4]	24,5 [11,4; 56,6]	12,5 [4,0; 43,9]
	P + G	34			15,4 [11,4; NA]	81,1 [69,8; 94,3]	62,7 [46,9; 84,4]	41,8 [25,4; 71,1]	27,2 [13,2; 60,0]
"Боль ниже среднего"	M + G	57	0,976	0,95 [0,63;1,41]	6,7 [5,6; 10,3]	57,3 [45,5; 74,4]	22,8 [12,9; 41,4]	8,5 [3,2; 23,4]	6,3 [2,0; 20,1]
	P + G	50			6,4 [5,6; 10,0]	55,6 [44,0; 73,3]	21,0 [11,7; 39,7]	7,4 [2,6; 22,5]	5,4 [1,6; 19,4]

M + G: маситиниб + гемцитабин;

P + G: плацебо + гемцитабин;

\* логранговая величина  $p$ .

В "болевой" субпопуляции (пациенты с обусловленным заболеванием болевым синдромом с интенсивностью боли по ВАШ  $>20$  мм) комбинированное лечение маситинибом и гемцитабином существенно увеличивало общую выживаемость пациентов с раком поджелудочной железы и интенсивностью болевого синдрома по ВАШ  $>20$  по сравнению с лечением комбинацией плацебо + гемцитабин, что доказывает величина  $p$ , равная 0,01. Отношение рисков для смерти (определенное как вероятность смерти при лечении комбинацией маситиниб + гемцитабин по отношению к вероятности смерти при лечении комбинацией гемцитабин + плацебо) составляло 0,61 (95% CI [0,42; 0,88]), это означает что риск смерти у пациентов, получавших лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин был существенно ниже на 39% по сравнению с пациентами, получавшими лечение комбинацией плацебо + гемцитабин. Если рассматривать худший вариант границ высокого доверительного интервала, т.е. 0,88, риск смерти для пациентов в "болевой" субпопуляции все равно снижался на 12% при лечении комбинацией маситиниб + гемцитабин. Средняя OS в субпопуляции, получавшей лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин, составляла 8,1 месяцев, в то время как для субпопуляции, получавшей гемцитабин плюс плацебо, она составляла только 5,4 месяцев. Процент OS на 6, 12, 18 и 24 месяц составлял соответственно 58,2, 32,2, 17,2 и  $<6,4\%$  для комбинации маситиниб + гемцитабин против 43,9, 17,8, 7,8 и  $<2,0\%$  для комбинации плацебо + гемцитабин. Анализ Каплана-Мейера для многофакторной модели указанной популяции представлен на фиг. 4. Терапевтическое преимущество комбинированного лечения маситинибом и гемцитабином по сравнению с лечением плацебо и гемцитабином четко видно из многофакторной модели, в которой было показано, что вероятность выживания у пациентов из субпопуляции, получавшей маситиниб + гемцитабин, существенно выше.

В "безболевого, безморфиновой" субпопуляции (пациенты с обусловленным заболеванием болевым синдромом с интенсивностью боли по ВАШ [0-5], не требующим применения опиоидных анальгетиков для его купирования) комбинированное лечение плацебо + гемцитабин существенно увеличивало общую выживаемость пациентов с раком поджелудочной железы по сравнению с субпопуляцией, получавшей лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин, что доказывает величина  $p$ , равная 0,041, и отношение рисков для смерти 1,63 (95% CI [0,94; 2,85]). Этот многофакторный анализ поддерживает заключение о том, что при отсутствии какого-либо независимого прогностического фактора введение комбинации маситиниб + гемцитабин для лечения пациентов, страдающих от рака, не ассоциированного с выраженным болевым синдромом или не требующего применения опиоидных анальгетиков, для купирования такого болевого синдрома является нецелесообразным. Анализ Каплана-Мейера для многофакторной модели указанной популяции представлен на фиг. 5.

В субпопуляции с интенсивностью боли "ниже среднего" (т.е. пациенты с обусловленным заболеванием болевым синдромом с интенсивностью боли по ВАШ в пределах от 5 до 20) многофакторная Соx модель не выявила существенного влияния изучаемого лечения на общую выживаемость пациентов,  $p$  величина составляла 0,976, а отношение рисков смерти 0,95 (95% CI [0,63; 1,41]). Следовательно, указанная субпопуляция рассматривалась как нейтральная. Анализ Каплана-Мейера для многофакторной модели указанной популяции представлен на фиг. 6. Из представленного графика Каплана-Мейера видно, что две кривые, отражающие вероятность выживания, являются практически одинаковыми, следовательно, субпопуляция с интенсивностью боли "ниже среднего" является нейтральной по отношению к лечению комбинацией маситиниб плюс гемцитабин. Это важно если принимать во внимание, что лечение "безболевого, безморфиновой" субпопуляции комбинацией маситиниб + гемцитабин является нецелесообразным, субпопуляция с интенсивностью боли "ниже среднего", таким образом, представляет собой большой буфер между границами, когда надо назначать лечение и когда не надо, что существенно снижает любые риски для пациента, получающего лечение, которые могут отрицательно влиять на его выживание.

Дополнительно было отмечено, что пациентам с обусловленным заболеванием болевым синдромом с интенсивностью по ВАШ  $>20$  может в конечном итоге потребоваться введение опиоидных анальгетиков для купирования болевого синдрома, в результате чего интенсивность их боли может последовательно снижаться до интенсивности по ВАШ  $<5$  мм. Однако указанная субпопуляция пациентов, определенная как субпопуляция "без боли, но требующая введения опиоидных анальгетиков", как было показано, также является нейтральной субпопуляцией (данные не представлены).

Анализ безопасности для исследования AB07012.

В "болевой" субпопуляции пациентов (ВАШ  $>20$ ) частота нежелательных явлений (AE) была одинаковой для обоих режимов лечения (100%). Частота серьезных нежелательных явлений и тяжелых нежелательных явлений была выше в субпопуляции, получавшей маситиниб (68,8 и 85,9% пациентов соответственно), по сравнению с субпопуляцией, получавшей плацебо (56,2 и 71,2% соответственно). AEs, приводящие к прекращению лечения гемцитабином или к прерыванию лечения, чаще встречались в субпопуляции, получавшей маситиниб + гемцитабин, по сравнению с субпопуляцией, получавшей плацебо + гемцитабин. Эта тенденция повторялась и в общей популяции; т.е. частота AEs была одинакова в обеих лечебных субпопуляциях, а частота серьезных или тяжелых AEs, а также случаи прерывания или прекращения лечения гемцитабином были выше в субпопуляции, получавшей лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин, по сравнению с субпопуляцией, получавшей лечение комбинацией плацебо +

гемцитабин.

Воздействие гемцитабина в субпопуляции, получавшей маситиниб + гемцитабин, по сравнению с субпопуляцией, получавшей плацебо + гемцитабин, снижалось приблизительно на 35% в общей популяции; на 30% в "болевой" субпопуляции; на 30% в субпопуляции с интенсивностью боли "ниже среднего" и на 45% в "безболевой, безморфиновой" субпопуляции. В целом, пациенты из лечебной субпопуляции маситиниб + гемцитабин получали маситиниб в среднем в течение 3,0 месяцев, в то время как пациенты из лечебной субпопуляции плацебо + гемцитабин получали плацебо в среднем около 4,3 месяцев. Таким образом, воздействие изучаемого лекарственного средства было существенно ниже в лечебной субпопуляции маситиниб + гемцитабин ( $p=0,001$ ). Низкое воздействие изучаемого лекарственного средства подтверждалось интенсивностью дозы препарата, получаемой пациентами во время исследования: 34,7% пациентов из лечебной субпопуляции маситиниб + гемцитабин получили менее 80% от первично планируемой дозы препарата против 17,1% пациентов из лечебной субпопуляции плацебо + гемцитабин.

При обобщении указанные наблюдения, касающиеся нежелательных явлений и воздействия лекарственного средства, указывают, что вводимая доза маситиниба, составлявшая 9 мг/кг в день, не является оптимальной для комплаенса пациентов, частично по причине дополнительной токсичности, обусловленной комбинированным лечением. Принимая во внимание новые факты, касающиеся предполагаемых механизмов действия маситиниба, доза маситиниба 6 мг/кг в день считается оптимальной стартовой дозой, при этом увеличение дозы разрешается у пациентов с неадекватным ответом на лечение при отсутствии лимитирующей токсичности.

Выводы относительно эффективности лечения в исследовании AB07012 на основании прогностического фактора интенсивности боли.

Одна из целей исследования AB07012 заключалась в сравнении эффективности комбинации маситиниб + гемцитабин и комбинации плацебо + гемцитабин в лечении пациентов с неоперабельным местно распространенным и/или метастатическим раком поджелудочной железы. В общей популяции не было выявлено статистически значимого улучшения средней общей выживаемости пациентов, получавших лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин. Однако многофакторный анализ с различными исходными характеристиками показал, что интенсивность боли является одним из наиболее важных факторов, позволяющих предсказать эффективность лечения в общей популяции. Согласно данному критерию было выделено три субпопуляции пациентов:

"болевая", ВАШ  $>20$ ;

"безболевая, безморфиновая", ВАШ  $<5$ ;

"боль ниже среднего", ВАШ [5-20].

Стратификация пациентов, таким образом, показала, что для пациентов, получавших плацебо + гемцитабин (т.е. гемцитабин в качестве монотерапии), средняя OS составила 15,4 месяцев в "безболевой, безморфиновой" субпопуляции, по сравнению с 5,4 месяцами в "болевой" субпопуляции, что соответствует разнице в 10,0 месяцев в средней OS между указанными двумя субпопуляциями. В противоположность этому, было показано, что лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин существенно увеличивало общую выживаемость в "болевой" субпопуляции со средней OS 8,1 месяц и отношением рисков 0,61 (95%CI [0,42; 0,88]), это означает, что риск смерти снизился на 39% в лечебной субпопуляции маситиниб + гемцитабин по сравнению с лечебной субпопуляцией плацебо + гемцитабин ( $p$ -величина 0,01). Отношение рисков изменилось в "безболевой, безморфиновой" субпопуляции и составило 1,63 (95% CI [0,94; 2,85]) с величиной  $p=0,041$ . Таким образом, в соответствии с прогностическим фактором интенсивности боли при отсутствии любого другого независимого прогностического фактора указанное лечение пациентов из "безболевой, безморфиновой" субпопуляции является нецелесообразным.

Подводя итоги, проведенное исследование позволило сделать открытие, что интенсивность боли является сильным прогностическим фактором общей выживаемости у пациентов с раком поджелудочной железы. Лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин, как было доказано, является эффективным в субпопуляции пациентов, в которой было зарегистрировано хотя бы одно сообщение пациента о наличии боли с интенсивностью более 20, измеренной при помощи визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) (например, ВАШ  $>20$  мм при измерении на 100 мм линейке, или 20%). Указанная субпопуляция имеет худший прогноз и, таким образом, очень высокие нереализованные потребности в медицинской помощи. В "болевой" субпопуляции, составляющей приблизительно 43,9% пациентов, средняя OS составила 5,4 месяцев для пациентов, получавших маситиниб + гемцитабин, в то время как в "безболевой, безморфиновой" субпопуляции она составила 15,4 месяцев, а в субпопуляции с интенсивностью боли "ниже среднего" - 6,4 месяцев. Лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин существенно увеличивало общую выживаемость в "болевой" субпопуляции пациентов: средняя OS составила 8,1 месяц по сравнению с 5,4 месяцами в субпопуляции, получавшей плацебо + гемцитабин ( $p$ -величина 0,010). Отношение рисков составляло 0,61 (95% CI [0,42; 0,88]), это свидетельствует о том, что риск смерти снизился на 39% в лечебной субпопуляции маситиниб + гемцитабин по сравнению с контрольной субпопуляцией. Процент OS на 12, 18 и 24 месяц составлял соответственно 32, 18 и  $<6,4\%$  для субпопуляции маситиниб + гемцитабин против 18, 8 и  $<2,0\%$  для комбинации плацебо + гемцитабин.

Пример 2. Геномный анализ в исследовании AB07012 для определения прогностических критериев эффективности лечения.

Было проведено дополнительное фармакогеномное исследование для определения прогностических критериев эффективности лечения на основании геномных данных. Это означает, что были идентифицированы гены, подвергавшиеся повышенной или пониженной регуляции в рандомизированной популяции пациентов с раком поджелудочной железы, отобранной для исследования AB07012, которые могут коррелировать с общей выживаемостью и клиническим преимуществом исследуемого лечения. Основные факты, обнаруженные в результате указанного дополнительного исследования, касающиеся лечения субпопуляции пациентов, идентифицированной на основании прогностических факторов генной экспрессии, представлены выше в разделе "Описание изобретения". Ниже представлены дополнительные детали использованных методик.

Протокол Skuldtech для анализа генной экспрессии.

Геномный анализ, включающий глобальный транскриптомный анализ образцов клеток периферической крови, отобранных до начала лечения маситинибом, осуществляли согласно протоколу Skuldtech с использованием высокоточного метода секвенирования нового поколения (осуществляли независимо трижды) (Montpellier, France). Идентификация генов, экспрессия которых коррелировала с общей выживаемостью и типом применявшегося лечения, основана на многоэтапном процессе. Ниже представлены выдержки из протокола Skuldtech (этапы 1-7), с последующим общим обсуждением определенных методологических аспектов дифференциальной генной экспрессии.

1. Сбор образцов и манипуляции с ними.

Получали образцы периферической крови в пробирках PAXgene на сухом льду (поставщик: LabConnect, USA) и хранили их при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Полученные образцы в пробирках принадлежали 119 пациентам и были собраны до начала лечения; их маркировали как "0 неделя".

Общую РНК экстрагировали из образцов крови 119 пациентов перед началом лечения, маркированных как "0 неделя". Транскриптомный анализ (исследование биомаркеров) осуществляли только в этой временной точке.

Анализировали все 119 образцов РНК. Если некоторые полученные образцы оказывались непригодными для анализа по причине неудовлетворительного качества материала, их не использовали.

Исследование дискретной генной экспрессии (Digital Gene Expression, DGE) осуществляли для идентификации набора вероятных биомаркеров.

Правильность выбора биомаркеров подтверждали при помощи ПЦР в реальном времени на планшете COBAS (LC480, ROCHE Diagnostics); для отбора лучших биомаркеров использовали подходящие методики биостатистики.

2. Образцы РНК.

119 образцов РНК крови, соответствующих исходным образцам крови, экстрагировали из крови (пробирки для сбора крови PAXgene, BD) при помощи набора для экстракции РНК PAXgene V.2 (PreAnalytix) в соответствии с инструкциями производителя.

Контроль целостности РНК осуществляли с помощью прибора Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Palo Alto, USA), используя наночип 6000 для тотальной эукариотической РНК (Eukaryotic Total RNA 6000 Nano Chip) (Agilent Technologies). Количество РНК контролировали с помощью спектрофотометра NanoDrop ND-1000. Очищенную РНК хранили при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

3. Конструирование DGE библиотеки и маркерное картирование генов.

12 библиотек дискретной генной экспрессии (DGE) конструировали на основании РНК, выделенной из образцов периферической крови. Для каждой из четырех подвергавшихся лечению субпопуляций (т.е. плацебо + гемцитабин Р или маситиниб + гемцитабин М и умершие до начала 4 месяца, М4 или выжившие после 15 месяца, М15) были сконструированы три независимые DGE библиотеки с использованием тех же РНК образцов периферической крови (три технических реплики). Библиотеки конструировали при помощи набора Illumina's DGE Tag Profiling согласно инструкции производителя (версия 2.1 В) с использованием 5 мкг общей РНК (эквивалентные количества РНК в пуле между каждым образцом РНК). Анализ последовательностей и распознавание оснований осуществляли при помощи Illumina Pipeline, а маркерные последовательности получали после очистки на фильтрах. Использовали планшет MGX (Montpellier, France). Данные из каждой DGE библиотеки анализировали при помощи программного обеспечения BIOTAG (Skuldtech, Montpellier, France) для определения маркеров, подсчета маркеров и оценки качества DGE библиотек (Piquemal D, et al., Genomics. 2002 Sep; 80(3):361-71).

4. Аннотирование маркеров и отбор.

Была создана локальная база данных, объединяющая генные последовательности человека и сопутствующую информацию, полученную на основании хорошо аннотированных последовательностей из кластеров UniGene (Built #232, March 2012, NCBI). Для каждой последовательности из указанной базы данных экстрагировали предполагаемый DGE маркер (канонический маркер), расположенный выше 3'-ближайшего сайта рестрикции NlaII (CATG) последовательности (R1), а также гипотетические маркеры, расположенные во внутренних позициях (помеченные как R2, R3 и R4, начиная с 3' конца транскрип-

та) (Piquemal D., et al., Genomics. 2002 Sep; 80(3):361-71). Экспериментальные маркеры, полученные из DGE библиотек, были помечены и аннотированы (точное мечение для 17bp) при помощи этой коллекции виртуальных маркеров. Сначала искали соответствия между каждым экспериментальным маркером и виртуальным каноническим маркером (R1). Затем аннотировали непомеченные экспериментальные маркеры, сначала с R2 маркерами, затем с R3 и R4 маркерами. Анализ исследований DGE осуществляли при помощи способа edgeR (версия 2.6.9, Bioconductor 5). Синтез кДНК с помощью ПЦР в реальном времени осуществляли обратную транскрипцию для каждой из 119 РНК в 20 мкл объема конечной реакции с 300 нг общей РНК и использованием 20 единиц фермента Superscript II (M-MLV RT Type, Invitrogen) и 250 нг случайных праймеров в соответствии с инструкциями производителя (25°C для 10 мин, 42°C для 50 мин, 70°C для 15 мин), в тот же день, с тем же микродозатором и тем же лаборантом.

#### 6. ПЦР в реальном времени.

Достоверность отобранных маркированных генов подтверждали при помощи ПЦР в реальном времени на планшете Roche Diagnostics. Исследования по qPCR осуществляли при помощи набора LightCycler® 1536 DNA Master Kit и набора готовых ДНК зондов для ПЦР в реальном времени (Roche Diagnostics) на аппарате Roche Diagnostics LightCycler 1536® qPCR в соответствии с инструкциями производителя. Для анализа с Sybr Green реакционную смесь приготавливали в конечном объеме 2 мкл следующим образом: 0,4 мкл LightCycler 1536 DNA Green Master 5X (Roche), 0,1 мкл Bright Green 20X (Roche), 0,1 мкл Setup Control 20X (Roche), 0,04 мкл 50 мкМ парных праймеров (Eurogentec), 0,36 мкл воды, свободной от ДНКаз и РНКаз, и 1 мкл кДНК матрицы (1/50 конечное разведение). Для анализа с зондами реакционную смесь приготавливали в конечном объеме 2 мкл следующим образом: 0,4 мкл Real Time Ready DNA Probe Master 5X (Roche), 0,1 мкл Control Setup 20X, 0,1 мкл 4 мкМ прямого праймера (Eurogentec), 0,1 мкл 4 мкМ обратного праймера (Eurogentec), 0,1 мкл 4 мкМ зонда FAM/TAMRA (Eurogentec), 0,2 мкл воды, свободной от ДНКаз и РНКаз, и 1 мкл кДНК матрицы (1/50 конечное разведение). Все этапы пипетирования осуществляли при помощи Agilent Bravo Automated Liquid Handling Platform. Программа ПЦР включала первый предшествующий инкубированию этап при 95°C в течение 1 мин с последующими 50 циклами ПЦР (95°C в течение 2 с, 60°C в течение 30 с). Для разделения специфических и неспецифических продуктов и димеров праймеров создавали кривую плавления за счет постепенного повышения температуры с 60 до 95°C. Данные qPCR анализировали при помощи метода DCt (Livak KJ and Schmittgen TD. Methods. 2001 Dec; 25(4):402-8). Величины DCt определяли для всех генов-мишеней путем вычитания величин Ct из среднего значения Ct величин двух референсных генов (генов домашнего хозяйства). Два гена домашнего хозяйства - это гены B2M (NM\_009735, микроглобулин бета-2 Mus musculus, мРНК) и GAPDH (NM\_002046, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, транскриптный вариант 1, мРНК + NM\_001256799 глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа человека, транскриптный вариант 2, мРНК).

#### 7. Транскриптомные профили.

С помощью метода дискретной генной экспрессии (DGE) составляли транскриптомные профили клеток крови пациентов, при помощи способа edgeR были отобраны 169 генов, которые дифференциально экспрессировались у пациентов, хорошо и плохо отвечающих на лечение маситинибом. Гены для анализа были отобраны в соответствии с (i) математическими фильтрами с наивысшей дифференциальной кратностью изменения ( $>1,5$ ), FDR скорректированным критерием р-величины ( $<10\%$ ), на основании ошибки типа I ( $\alpha=5\%$ ), и (ii) биологическими фильтрами с вовлечением генов-мишеней в специфические процессы и известные метаболические пути. При ПЦР в реальном времени положительную реакцию определяют при накоплении флуоресцентного сигнала. Ct (пороговый цикл) определяется как количество циклов ПЦР, необходимых для того, чтобы флуоресцентный сигнал преодолел порог (т.е. превысил исходный уровень). Ct величины обратно пропорциональны количеству заданной нуклеиновой кислоты в образце (т.е. чем ниже величина Ct, тем больше количество заданной нуклеиновой кислоты в образце).

Методика идентификации прогностических факторов генной экспрессии для общей выживаемости.

Цели этого дополнительного исследования заключались в следующем: выявить (i) биомаркеры, прогностические в отношении длительной выживаемости (т.е. повышенной OS) для пациентов, получавших лечение маситинибом в комбинации с гемцитабином, по сравнению с пациентами, получавшими лечение плацебо и гемцитабином; (ii) биомаркеры, прогностические в отношении ранней смерти (т.е. пониженной OS) для пациентов, получавших лечение маситинибом в комбинации с гемцитабином, по сравнению с пациентами, получавшими лечение плацебо и гемцитабином. Этот анализ позволил одновременно измерить уровень экспрессии большого количества генов в образцах клеток периферической крови, собранных до начала лечения маситинибом, у 119 пациентов из исследования AB07012 (соотношение пациентов, получавших маситиниб + гемцитабин, и пациентов, получавших плацебо + гемцитабин 1:1). Образцы крови пациентов и выделение РНК (рибонуклеиновой кислоты) осуществляли при помощи системы для получения РНК крови PAXgene™, образцы для транспортировки упаковывали в сухой лед и хранили при -80°C. Пробирки PAXgene одобрены FDA (i.d. K04261 3). Образцы для анализа собирали однократно на 0 неделе (исходная точка).

В целом, дифференциальная генная экспрессия представляет ряд трудностей относительно воспро-

изводимости и определения действительно новых паттернов генной экспрессии. Например, анализ образцов РНК из клеток периферической крови может сопровождаться различными ошибками по причине экспериментальной и индивидуальной вариабельности. Кроме того, может быть затруднен предварительный отбор генов, представляющих интерес, по причине необходимости наличия предварительных сведений о транскриптоме. Для решения указанных проблем и достижения оптимальной воспроизводимости Skuldttech предложил следующие решения:

использование системы для сбора РНК крови PAXgene™, что препятствует распаду РНК и появлению различий в качестве образцов, которые могут возникать по причине различных стандартов сбора материалов в разных лабораториях;

при осуществлении анализа на биокондукторе edgeR и объединении РНК образцов необходимо принимать во внимание присущую генно-специфическую и индивидуальную вариабельность экспрессии;

методика DGE не основана на предварительных сведениях о транскриптоме, представляющем интерес, следовательно, она может применяться к любому пациенту из субпопуляции, представляющей интерес;

для осуществления qPCR используется стандартная утвержденная в настоящее время платформа, которая соответствует существующим промышленным и лабораторным стандартам.

Первый аналитический этап включал полный DGE анализ, который осуществляли при помощи методики edgeR [<http://www.bioconductor.Org/packages/2.9/bioc/html/edgeR.html>]. На втором аналитическом этапе осуществляли  $2^{\Delta\Delta Ct}$  ( $2^{\Delta\Delta Ct}$  - дельта дельта величина порогового цикла) при помощи R программы ddCt для ПЦР в реальном времени [[www.bioconductor.Org/packages/2.9/bioc/html/ddCt.html](http://www.bioconductor.Org/packages/2.9/bioc/html/ddCt.html)]. Этот анализ использовался для установления дифференциальных пределов, чтобы определить, будет ли отобранный ген удовлетворять классическим клиническим и техническим характеристикам. В этом исследовании каждый ген, представляющий интерес, амплифицировали при помощи qPCR, а полученный параметр, называемый дельта величиной порогового цикла (DCt) оценивали после индивидуального нормирования каждого гена для каждого пациента, что позволяло оценить уровень экспрессии указанного гена у конкретного пациента. Нормирование величин Ct осуществляли при помощи двух референсных генов (генов домашнего хозяйства: B2M, GAPDH), которые демонстрируют стабильную экспрессию в DGE анализе образцов РНК периферической крови. DCt определяют для каждого гена путем вычитания величин Ct из среднего геометрического величин Ct референсных генов. Величины DCt обратно пропорциональны уровню генной экспрессии; таким образом, в случае повышающей регуляции генов низкая величина DCt свидетельствует о высоком уровне экспрессии, в то время как в случае понижающей регуляции высокая величина DCt свидетельствует о низком уровне экспрессии.

Метод DGE (дискретной генной экспрессии), используемый в настоящем исследовании, представляет собой высокоточный способ секвенирования для транскриптомного анализа. Этот способ позволяет количественно и напрямую измерить избыток РНК, представленный количеством последовательных считываний в участке, представляющем интерес, в отличие от непрямого, аналогового сигнала с микрочипов. Кроме того, он имеет широкие динамические пределы и не зависит от наличия предварительных сведений об исследуемом транскриптоме. Следовательно, указанный способ позволяет полностью определить новые транскрипты и варианты мРНК, являющиеся следствием действия альтернативных промоторов, сайтов сплайсинга и полиаденилирования.

Библиотеки DGE были созданы с мРНК, выделенной при помощи поли-А селекции из общей РНК. Последовательное конструирование библиотек осуществляли при помощи профилирующего набора Illumina's DGE Tag (San Diego, USA) в соответствии с инструкциями производителя (версия 2.1B). Вкратце, молекулы РНК случайным образом примировали для обратной транскрипции с последующим синтезом второй цепи для создания двуцепочечных фрагментов кДНК. Затем получали специфические 21bp-маркеры для каждой молекулы РНК. Маркеры изолировали, присоединяли специфические адаптеры и затем осуществляли ПЦР амплификацию. Библиотеки секвенировали на платформе для секвенирования ДНК Illumina's (San Diego, USA). Поскольку DGE предоставляет абсолютные величины и не требует какой-либо калибровки с непостоянными стандартами, результаты можно сравнить с другими данными, полученными в независимых лабораториях.

Для исключения ошибок по причине человеческого фактора и сложности очистки клеток был выбран протокол Skuldttech для прямого анализа цельной крови. Следовательно, отбор и идентификация биомаркеров при помощи DGE подхода на первых этапах данного проекта осуществлялись из образцов цельной крови. Наконец, применялась стратегия объединения - это метод, который часто используется в эпидемиологии, когда индивидуальные исследования предоставляют слишком мало информации, чтобы сделать какое-либо четкое заключение. Основное преимущество простого объединения заключается в том, что оно позволяет идентифицировать наиболее часто встречаемые/специфические профили генной экспрессии и исключить индивидуальные различия.

Молекулы РНК подвергали обратной транскрипции согласно протоколу Roche Diagnostic's. Уровни генной экспрессии потенциальных биомаркеров исследовали при помощи ПЦР в реальном времени, с использованием LightCycler 480. Экспрессию референсных генов подсчитывали в каждом планшете для



ПЦР в реальном времени для того, чтобы оценить техническую эффективность ПЦР в реальном времени. Различия в величинах  $C_t$ , ассоциированные с каждой ПЦР в реальном времени, оценивали среди референсных генов. Для всех генов-мишеней определяли величины  $DCt$  путем вычитания величин  $C_t$  из среднего геометрического величин  $C_t$  референсных генов. Таким образом, была построена матрица данных на основании величин  $DCt$ , полученных при помощи динамических ПЦР анализов в реальном времени; полученная матрица затем использовалась для проверки существующих гипотез.

Отбор генов, представляющих интерес, и идентификация прогностических факторов генной экспрессии.

При помощи DGE анализа было отобрано 169 генов, взятых из геномной базы данных 119 пациентов из модифицированной ИТТ популяции. Отбор указанных генов был основан на влиянии генов на общую выживаемость, в частности генов, ассоциированных с общей выживаемостью пациентов, получавших лечение маситинибом в комбинации с гемцитабином. Каждый из отобранных генов был амплифицирован при помощи количественной полимеразной цепной реакции (qPCR), а уровень экспрессии указанного гена у конкретного пациента оценивался после индивидуального нормирования. Анализ был основан на различиях в величинах  $C_t$ , полученных в каждой qPCR, и с учетом набора референсных генов (B2M, GAPDH). Для каждого гена путем вычитания величин  $C_t$  из среднего геометрического величин  $C_t$  указанных референсных генов определяли величины дельта  $C_t$  ( $DCt$ ). Для каждого гена было установлено три предела: средний, Q1 (первый квартиль, P25) и Q3 (третий квартиль, P75). Для каждого предела (ниже предельной величины/выше предельной величины) использовалась многовариантная модель для первичного критерия рассчитанного отношения рисков, статистика Хи-квадрат и р-величина для модели Сох (одна на ген) для объяснения OS; указанная модель включала следующие факторы: лечебная субпопуляция, состояние опухоли, локализация опухоли, а также уровень альбумина на начало исследования.

Таким образом, для каждого гена были проведены семь различных моделей Сох:

Отсутствие предела необработанных величин  $DCt$  в модели;

$DCt$  величины < среднего;

$DCt$  величины > среднего;

$DCt$  величины < Q1;

$DCt$  величины > Q1;

$DCt$  величины < Q3;

$DCt$  величины > Q3.

Если эффект лечебного режима был существенным ( $p < 5\%$ ), тогда можно сделать заключение о том, что исследуемый ген оказывает различное влияние на выживаемость в зависимости от лечебного режима. Исследуемый ген отбирали для следующего этапа, если  $p < 5\%$ . Было отобрано всего 37 генов/предельных комбинаций, включающих 17 различных генов.

Для каждого из отобранных на предварительных этапах 17 генов использовалась та же многофакторная модель для каждой комбинации и для каждого предела. Таким образом, для каждого гена запускали семь различных Сох моделей. Основное правило заключалось в том, что субпопуляция, созданная при отборе таких комбинаций, должна была включать более 40 пациентов (1/3 от общей популяции).

Указанные различные комбинации классифицировали в соответствии с дискриминационной силой комбинации, измеренной при помощи р-величины и метода Хи-квадрат в модели Сох. Шесть наиболее значительных (р-величины  $< 0,01$ ) комбинаций представлены в табл. 4.

Таблица 4

Отобранные парные генные комбинации, представляющие интерес, и их пределы

Популяция		
(1) ACOX1 $\leq 3,05$	и	TNFRSF10B $\leq 6,1$
(2) RPS23 $> 0,35$	и	ACOX1 $\leq 3,05$
(3) ABCC3 $\leq 4,3$	и	LYN $\leq 1,65$
(4) HIF1 $\leq 3,95$	и	TNFRSF10B $\leq 5,65$
(5) ABCC1 $> 3,5$	и	IGJ $> 7,05$
(6) UBE2H $> 3,7$	и	PARP2 $> 7,1$

Для того чтобы завершить создание наиболее общего всестороннего генетического фингерпринта, первым делом выбирали наиболее значимую парную генную комбинацию и регистрировали следующую информацию: количество пациентов субпопуляции, отношение рисков, р-величина для модели Сох. Затем добавляли следующую парную генную комбинацию для увеличения размера выборки и усиления анализа. Регистрировали информацию, указанную выше. Процесс отбора останавливали, когда после добавления новых комбинаций в выборке не оставалось (или оставалось мало) пациентов, с условием, что отношение рисков и/или р-величина сохранялись неизменными. В табл. 5 обобщен процесс отбора.

Таблица 5

Парные генные комбинации со статистически значимым влиянием на OS с учетом типа лечения

Популяция	N	HR	p-величина
<b>(1) ACOX1 ≤ 3,05 и TNFRSF10B ≤ 6,1</b>	31	0,19	<0,01
<b>(2) RPS23 &gt; 0.35 и ACOX1 ≤ 3.05</b>	35	0,20	<0,001
<b>(3) ABCC3 ≤ 4.3 и LYN ≤ 1.65</b>	37	0,19	<0,001
<b>(4) HIF1 ≤ A3.95 и TNFRSF10B ≤ 5.65</b>	40	0,19	<0,001
<b>(5) ABCC1 &gt; 3.5 и IGJ &gt; 7.05</b>	52	0,19	<0,0001
<b>(6) UBE2H &gt; 3.7 и PARP2 &gt; 7.1</b>	56	0,192	<0,00001

Жирным шрифтом выделены наиболее отличительные парные генные комбинации, соответствующие шести прогностическим факторам генной экспрессии и объединенные общим термином "генетический фингерпринт".

Процесс останавливали после отбора шести комбинаций. Среди пациентов, идентифицированных как носители GBM, для некоторых были отмечены оба репликата (45 пациентов), для некоторых только дубликат 1, но не дубликат 2 (11 пациентов), а для некоторых только дубликат 2, но не дубликат 1 (10 пациентов). Таким образом, конечная субпопуляция включала всего 66 пациентов (45+11+10). В результате конечного отбора парных генных комбинаций был создан набор "прогностических факторов генной экспрессии" (обозначаемый общим термином "генетический фингерпринт"). Этими прогностическими факторами генной экспрессии являются следующие парные генные комбинации: ACOX1≤3,05 и TNFRSF10B≤6,1; RPS23>0.35 и ACOX1≤3.05; ABCC3≤4.3 и LYN≤1.65; HIF1≤A3.95 и TNFRSF10B≤5.65; ABCC1>3.5 и IGJ>7.05; UBE2H>3.7 и PARP2>7.1.

Величины DCt, как описано выше, отражают наиболее объемлющий общий генетический фингерпринт для распознавания целевой субпопуляции. Однако возможно, что оптимальные пороги находятся в непосредственной близости от этих пределов, например скорее на 55%, чем на медиане. Кроме того, пороговые значения, как определено выше, взяты из конкретной субпопуляции пациентов (N=119), которая может рассматриваться как репрезентативная для общей популяции пациентов с раком, однако следует ожидать, что при изучении другой субпопуляции пациентов оптимальные пределы будут меняться незначительно, поскольку такая субпопуляция также является репрезентативной выборкой населения в целом. Таким образом, для определения пределов, относящихся к указанным прогностическим факторам генной экспрессии, следует понимать, что незначительные изменения охватываются данным документом; например ±10% заявленных пределов или даже ±25% от указанных пределов.

Взятые в совокупности, указанные шесть прогностических факторов генной экспрессии позволяют определить субпопуляцию пациентов, которая имеет высокую вероятность положительного терапевтического ответа на лечение маситинибом, что выражается в увеличении выживаемости. Указанная субпопуляция в целом может рассматриваться как субпопуляция с "генетическим фингерпринтом" для лечения рака маситинибом. Таким образом, все анализы (исходный, анализ эффективности и безопасности) осуществляли для популяции с "генетическим фингерпринтом" (т.е. для тех пациентов, у которых был идентифицирован хотя бы один положительный прогностический фактор генной экспрессии). Кроме того, анализ эффективности также осуществляли на субпопуляции, негативной в отношении прогностических факторов генной экспрессии (т.е. на популяции без "генетического фингерпринта").

Оценка клинической эффективности исследования AB07012 в соответствии с прогностическими факторами генной экспрессии.

При рассмотрении полной когорты пациентов с доступной геномной информацией (n=119; 60 пациентов, получавших маситиниб, и 59 пациентов, получавших плацебо) средняя OS составила 7,7 месяцев в обеих лечебных субпопуляциях, а отношение рисков смерти составило 0,89 [0,60; 1.31] с величиной p 0,55. Таким образом, никаких выводов не может быть сделано в отношении положительных или негативных эффектов лечения маситинибом в этой субпопуляции без дополнительных анализов генной экспрессии.

OS анализировали в субпопуляции, идентифицированной как имеющая по крайней мере один прогностический фактор генной экспрессии и обозначаемой далее в тексте как субпопуляция с "генетическим фингерпринтом" или с "транскрипционным фингерпринтом" (66 пациентов), а также в противоположной субпопуляции пациентов, т.е. в субпопуляции без "генетического фингерпринта" или без "транскрипционного фингерпринта" (53 пациента).

В табл. 6 представлена средняя OS и оценка процента выживаемости пациентов, рассчитанная при помощи однофакторного или многофакторного анализа для субпопуляции с "генетическим фингерпринтом", в соответствии с лечебным режимом.

Таблица 6

OS - результаты для субпопуляции с "генетическим фингерпринтом"

Лечебная субпопуляция	N	р-величина*	Отношение рисков [95% CI]	Средняя OS [95% CI] (месяцы)	Процент OS [95% CI] (%)			
					M6	M12	M18	M24
Однофакторный анализ								
M+G	34	0,0000019	0,22 [0,12;0,40]	11,7 [8,6;17,1]	78,8 [66,7;93,2]	48,6 [32,8;74,8]	15,8 [7,1;45,4]	10,6 [4,1;39,0]
P+G	32			5,3 [3,9;8,6]	36,7 [21,7;67,4]	7,5 [2,6;35,8]	0,7 [0,1;19,1]	0,3 [0,0;16,3]
Многофакторный анализ								
M+G	34	0,00000056	0,17 [0,09;0,33]	12,9 [8,7;17,1]	78,7 [67,5;93,5]	52,5 [38,0;76,8]	18,3 [9,1;44,8]	12,6 [5,7;36,9]
P+G	32			4,7 [3,7;8,3]	31,8 [19,0;61,8]	7,4 [3,1;30,7]	0,8 [0,1;20,6]	0,3 [0,0;17,8]

M+G: маситиниб + гемцитабин;

P+G: плацебо + гемцитабин;

NR: не достигнуто;

\* логранговая величина р.

В однофакторной модели пациенты из лечебной субпопуляции маситиниб + гемцитабин имели среднюю OS 17,7 месяцев против 5,3 месяцев для пациентов, получавших плацебо + гемцитабин.

Это различие было еще более выраженным в многофакторной модели со средней OS 12,9 против 4,7 месяцев соответственно. После поправки на различия в исходных характеристиках различие в средней OS, как было доказано, является статистически значимым (р-величина <0,00001) с отношением рисков для смерти (определенным как вероятность смерти при лечении комбинацией маситиниб + гемцитабин по отношению к вероятности смерти при лечении комбинацией гемцитабин + плацебо) 0,22 с интервалом достоверности 95% [0,12; 0,40]. Таким образом, у пациентов из субпопуляции с "генетическим фингерпринтом" на 78% снижен риск смерти при лечении комбинацией маситиниб + гемцитабин по сравнению с пациентами, получавшими монотерапию гемцитабином. Если рассматривать худший вариант границ высокого доверительного интервала, т.е. 0,40, риск смерти для пациентов в субпопуляции с "генетическим фингерпринтом" все равно снижался на 60% при лечении комбинацией маситиниб + гемцитабин. Анализ Каплана-Мейера для пациентов из субпопуляции с "генетическим фингерпринтом" представлен на фиг. 7. Терапевтическое преимущество комбинации маситиниб + гемцитабин над комбинацией плацебо + гемцитабин очевидно из многофакторной модели, в которой вероятность выживания для пациентов, получавших лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин, существенно выше.

В табл. 7 представлены средняя OS и оценка процента выживаемости пациентов, рассчитанная для субпопуляции без "генетического фингерпринта".

Анализ Каплана-Мейера для пациентов из субпопуляции без "генетического фингерпринта" представлен на фиг. 8.

Таблица 7

OS - результаты для субпопуляции без "генетического фингерпринта"

результаты для субпопуляции без генетического фактора риска								
Лечебная субпопуляция	N	р-величина*	Отношение рисков [95% CI]	Средняя OS [95% CI] (месяцы)	Процент OS [95% CI] (%)			
					M6	M12	M18	M24
Однофакторный анализ								
M+G	26	0,0000082	5,00 [2,44;10,25]	4,8 [4,2;14,4]	40,0 [25,0;76,3]	10,8 [3,6;53,0]	3,3 [0,6;42,1]	<0,1** [0,0;35,9]
P+G	27			14,4 [8,8;23,3]	81,0 [68,0;97,0]	53,0 [38,1;86,8]	34,7 [20,2;73,3]	<9,3** [0,0;16,3]
Многофакторный анализ								
M+G	26	0,000036	4,24 [2,11;8,52]	5,6 [4,3;11,5]	45,2 [29,3;76,2]	12,5 [4,4;46,3]	3,6 [0,7;30,5]	>0,1** [0,0;20,4]
P+G	27			13,2 [8,4;23,0]	79,6 [68,3;96,6]	53,8 [37,4;85,0]	33,0 [18,5;70,2]	<6,9** [2,3;38,1]

M+G: маситиниб + гемцитабин;

P+G: плацебо + гемцитабин;

NR: не достигнуто;

\* логранговая величина р.

В однофакторной модели пациенты из лечебной субпопуляции маситиниб + гемцитабин имели среднюю OS 4,8 месяцев по сравнению с 14,4 месяцами для пациентов, получавших плацебо + гемцитабин. В многофакторной модели средняя OS составляла 5,6 и 13,2 месяца соответственно. Эта разница в средней OS была статистически значимой (р-величина = 0,00001) с отношением рисков для смерти (определенным как вероятность смерти при лечении комбинацией маситиниб + гемцитабин по отношению к вероятности смерти при лечении комбинацией гемцитабин + плацебо) 4,24 с интервалом достоверности 95% [2,11; 8,52] в многофакторной модели. Таким образом, риск смерти для пациентов, не относящихся

к субпопуляции "с генетическим фингерпринтом", т.е. не имеющим по крайней мере одного прогностического фактора генной экспрессии, выше при лечении комбинацией маситиниб + гемцитабин по сравнению с монотерапией гемцитабином. Следовательно, при отсутствии какого-либо другого положительного прогностического фактора лечение пациентов из субпопуляции "без генетического фингерпринта" маситинибом является нецелесообразным.

Наконец, было замечено, что не существует корреляции между когортой пациентов с геномными данными и их исходным болевым статусом по ВАШ, т.е. с прогностическим фактором интенсивности боли. Это было верно как для полной геномной когорты (целой популяции), а также для субпопуляции "с генетическим фингерпринтом" и субпопуляции "без генетического фингерпринта". Авторы предположили, что это обусловлено либо тем, что параметр интенсивности боли требует большего объема популяции для статистической значимости, либо тем, что прогностические факторы интенсивности боли и генной экспрессии обусловлены разными механизмами прогрессирования заболевания. В последнем случае вполне вероятно, что конкретный пациент может иметь один прогностический фактор, но не иметь другого, но при этом лечение маситинибом все равно будет иметь терапевтическое преимущество; в этом нет явного противоречия.

Таким образом, в субпопуляции "с генетическим фингерпринтом", при расчете, приблизительно для 55,%% пациентов средняя OS составила 4,7 месяцев для субпопуляции, получавшей плацебо + гемцитабин, в то время как для субпопуляции "без генетического фингерпринта" она составила 13,2 месяца. Следовательно, в настоящее время пациенты с установленным "генетическим фингерпринтом" имеют наименее худший прогноз в отношении общей выживаемости при применении стандартной схемы лечения рака поджелудочной железы, а именно монотерапии гемцитабином, и, таким образом, имеют очень высокую нереализованную потребность в медицинской помощи. Лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин существенно увеличивало общую выживаемость в субпопуляции "с генетическим фингерпринтом": средняя OS составляла 12,9 месяцев по сравнению с 4,7 месяцами в субпопуляции, получавшей лечение комбинацией гемцитабин + плацебо ( $p$ -величина = 0,00000056). Общий процент выживших пациентов на 12, 18 и 24 месяц составил соответственно 52,5, 18,3 и 12,6% среди пациентов, получавших лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин, против 7,4, 0,8 и 0,3% среди пациентов, получавших лечение комбинацией плацебо + гемцитабин. Отношение рисков составило 0,17 (95% CI [0,09; 0,33], что позволяет сделать предположение о том, что риск смерти снижался на 83% для пациентов, получавших лечение комбинацией маситиниб + гемцитабин, по сравнению с контрольной лечебной субпопуляцией, получавшей плацебо + гемцитабин.

В заключение было показано, что определенные выше прогностические факторы интенсивности боли и генной экспрессии являются независимыми прогностическими факторами плохой общей выживаемости у раковых пациентов, в частности у пациентов с раком поджелудочной железы, что лишний раз подтверждает высокую потребность таких пациентов из субпопуляции "с генетическим фингерпринтом" и "болевой" субпопуляции в медицинской помощи, как определено выше. Указанные два прогностических фактора позволяют идентифицировать пациентов, для которых является подходящим лечение комбинацией по крайней мере одного ингибитора тирозинкиназы, ингибитора тучных клеток или с-Kit ингибитора, в частности маситиниба или его фармацевтически приемлемой соли, возможно, в комбинации по крайней мере с одним противоопухолевым агентом.

## Список последовательностей

<110> АБ СЪЯНС [FR]

<120> маситиниб или его соль для лечения рака, фармацевтическая композиция, лекарственное средство и набор

<140> РСТ/ЕР2013/070741  
 <141> 2013-10-04

<160> 55

<170> PatentIn версия 3.5

<210> 1  
 <211> 19  
 <212> ДНК  
 <213> искусственная последовательность  
 <223> зонд  
 <400> 1  
 atggggaagg tgaaggtcg 19

<210> 2  
 <211> 22  
 <212> ДНК  
 <213> искусственная последовательность  
 <223> зонд  
 <400> 2  
 ggggtcattg atggcaaca ta 22

<210> 3  
 <211> 23  
 <212> ДНК  
 <213> искусственная последовательность  
 <223> зонд  
 <400> 3  
 gctcagtaaa gacacaacca tcc 23

<210> 4  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> искусственная последовательность  
 <223> зонд  
 <400> 4  
 catctgtgga ttcagcaaac c 21

<210> 5  
 <211> 19  
 <212> ДНК  
 <213> искусственная последовательность  
 <223> зонд  
 <400> 5  
 ccagtgggga tcggacaga 19

<210> 6  
 <211> 23  
 <212> ДНК

<213> искусственная последовательность	
<223> зонд	
<400> 6	
aggggatcat cgaagaggtat aat	23
<210> 7	
<211> 20	
<212> ДНК	
<213> искусственная последовательность	
<223> зонд	
<400> 7	
tttcttcact gcagggttt	20
<210> 8	
<211> 20	
<212> ДНК	
<213> искусственная последовательность	
<223> зонд	
<400> 8	
ggaaggagg gattttgagc	20
<210> 9	
<211> 20	
<212> ДНК	
<213> искусственная последовательность	
<223> зонд	
<400> 9	
ttttgtcttt tgtggttgga	20
<210> 10	
<211> 21	
<212> ДНК	
<213> искусственная последовательность	
<223> зонд	
<400> 10	
cctggtccac agaagatgtt t	21
<210> 11	
<211> 22	
<212> ДНК	
<213> искусственная последовательность	
<223> зонд	
<400> 11	
ggacataaca gacttggaag ca	22
<210> 12	
<211> 24	
<212> ДНК	
<213> искусственная последовательность	
<223> зонд	
<400> 12	
tggcaatttc ttacactaac ctga	24
<210> 13	

<211> 25	
<212> ДНК	
<213> искусственная последовательность	
<223> зонд	
<400> 13	
ggtttcatat ttaatttggt catgg	25
<210> 14	
<211> 23	
<212> ДНК	
<213> искусственная последовательность	
<223> зонд	
<400> 14	
caaacaagga agcacattgt gta	23
<210> 15	
<211> 20	
<212> ДНК	
<213> искусственная последовательность	
<223> зонд	
<400> 15	
gatttggtcg caaaggtcat	20
<210> 16	
<211> 20	
<212> ДНК	
<213> искусственная последовательность	
<223> зонд	
<400> 16	
tgcccttgta tagggcscaaa	20
<210> 17	
<211> 21	
<212> ДНК	
<213> искусственная последовательность	
<223> probe	
<400> 17	
ggaggacatt tggtagggctt t	21
<210> 18	
<211> 20	
<212> ДНК	
<213> искусственная последовательность	
<223> зонд	
<400> 18	
ccctctgagc actggaagtc	20
<210> 19	
<211> 22	
<212> ДНК	
<213> искусственная последовательность	
<223> зонд	
<400> 19	
atccaacgtc caataaacag ca	22

<210>	20	
<211>	21	
<212>	ДНК	
<213>	искусственная последовательность	
<223>	зонд	
<400>	20	
	aaggctacca caatgtctcc t	21
<210>	21	
<211>	22	
<212>	ДНК	
<213>	искусственная последовательность	
<223>	зонд	
<400>	21	
	gggaaaggaa tctactttgc tg	22
<210>	22	
<211>	20	
<212>	ДНК	
<213>	искусственная последовательность	
<223>	зонд	
<400>	22	
	ttcttttaggc gagaggcaaa	20
<210>	23	
<211>	20	
<212>	ДНК	
<213>	искусственная последовательность	
<223>	зонд	
<400>	23	
	cgcagggtttt ccactcatct	20
<210>	24	
<211>	19	
<212>	ДНК	
<213>	искусственная последовательность	
<223>	зонд	
<400>	24	
	atggccattt cttcccaag	19

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака поджелудочной железы у пациента, страдающего от связанной с болезнью интенсивной боли, определяемой как по меньшей мере одно сообщение пациента о наличии боли интенсивностью более 20% при использовании одномерного инструмента оценки интенсивности боли, где одномерный инструмент оценки интенсивности боли представляет собой визуальную аналоговую шкалу, вербальную описательную шкалу или числовую рейтинговую шкалу, включающий введение маситиниба или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с гемцитабином, причем маситиниб или его фармацевтически приемлемую соль вводят ежедневно в дозе от 4,5 до 12,0 мг/кг веса тела пациента.

2. Способ по п.1, где указанный одномерный инструмент для оценки интенсивности боли более 20% представляет собой визуальную аналоговую шкалу оценки интенсивности боли более 20 мм при измерении на 100 мм шкале.

3. Способ по п.1 или 2, где фармацевтическая соль маситиниба представляет собой мезилат.

4. Способ по любому одному из пп.1-3, где маситиниб или его фармацевтически приемлемую соль вводят ежедневно в начальной дозе от 6,0 до 7,0 мг/кг веса тела пациента.

5. Способ по любому одному из пп.1-4, где дозу маситиниба или его фармацевтически приемлемой соли увеличивают ежедневно на 1,5 мг/кг до достижения максимальной дозы 12,0 мг/кг.

6. Способ по любому одному из пп.1-5, где маситиниб или его фармацевтически приемлемую соль вводят перорально.

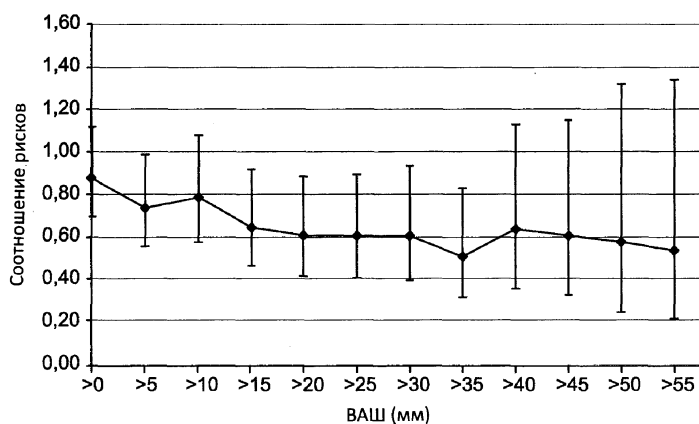
7. Способ по любому одному из пп.1-6, где маситиниб или его фармацевтически приемлемую соль вводят два раза в день.

8. Способ по любому одному из пп.1-7, где панкреатический рак является не оперируемой аденокарциномой.

9. Способ по любому одному из пп.1-8, где панкреатический рак является метастазирующей аденокарциномой.

10. Применение набора, содержащего маситиниб или его фармацевтически приемлемую соль и гемцитабин для использования в лечении рака поджелудочной железы у пациента, страдающего от связанной с болезнью интенсивной боли, в способе по любому из пп.1-9.





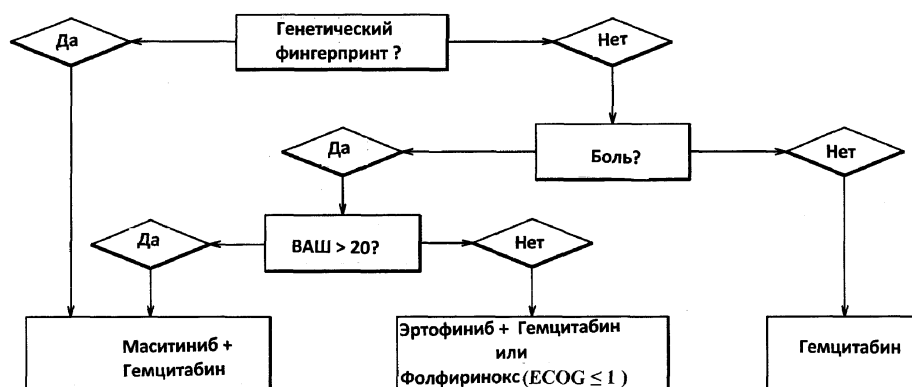
ВАС (мм)	Все пациенты	> 5	> 10	> 15	> 20	> 25	> 30	> 35	> 40	> 45	> 50	> 55
Кол-во (%) пациентов	348 (100%)	211 (61%)	184 (53%)	162 (47%)	137 (39%)	122 (35%)	104 (30%)	86 (25%)	68 (20%)	61 (18%)	50 (14%)	39 (11%)

Фиг. 1

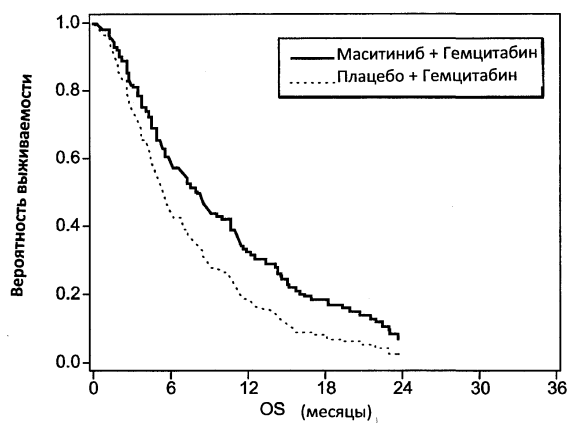
“Какая интенсивность боли у Вас сегодня? Пожалуйста, нанесите вертикальную отметку на линию ниже для того, чтобы указать интенсивность вашей боли сегодня”

Нет боли |—————| Очень сильная боль

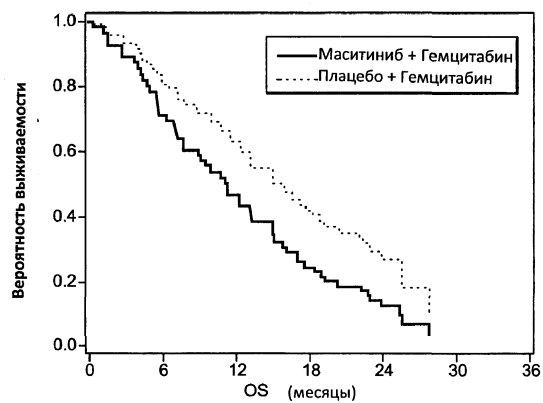
Фиг. 2



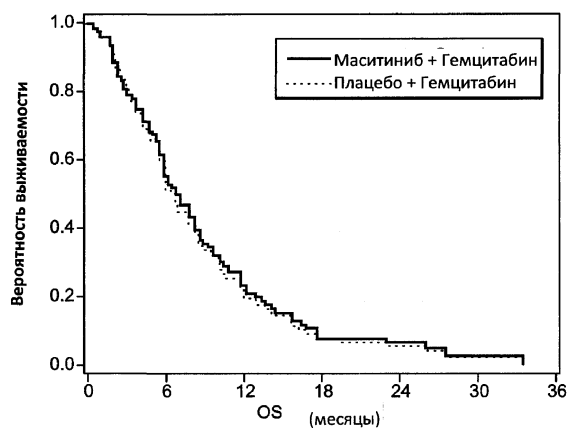
Фиг. 3



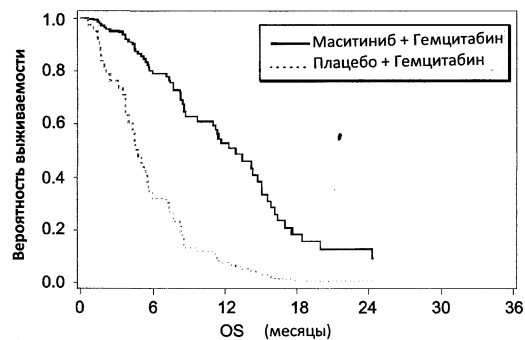
Фиг. 4



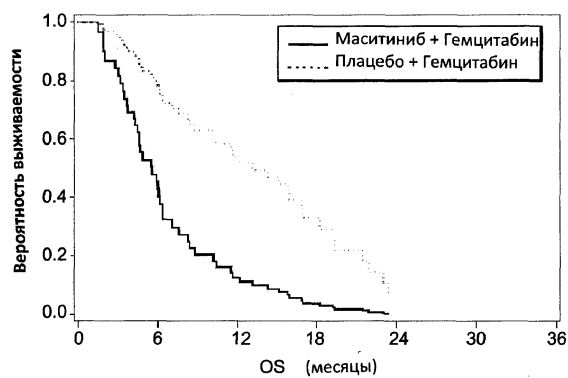
Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8

