

R U 2 7 6 4 7 2 4 C 2



(19) RU (11) 2 764 724⁽¹³⁾ C2

(51) МПК
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/445 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61K 45/06 (2021.05); A61K 31/519 (2021.05); A61K 31/445 (2021.05); A61P 35/00 (2021.05)

(21)(22) Заявка: 2019132893, 16.03.2018

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
16.03.2018

Дата регистрации:
19.01.2022

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
16.03.2017 US 62/472,345

(43) Дата публикации заявки: 16.04.2021 Бюл. № 11

(45) Опубликовано: 19.01.2022 Бюл. № 2

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 16.10.2019

(86) Заявка РСТ:
US 2018/022961 (16.03.2018)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2018/170447 (20.09.2018)

Адрес для переписки:
119019, Москва, Гоголевский бульвар, 11,
Гизатулин Шамиль Файзиевич

(72) Автор(ы):
КАРР, Крейг Д. (US),
КОРПАЛ, Манав (US),
РИУ, Натали (US),
СМИТ, Петер Герард (US)

(73) Патентообладатель(и):
ЭИСАЙ Р энд Д МЕНЕДЖМЕНТ КО.,
ЛТД. (JP)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: US 20160347717 A1, 01.12.2016. WO
2015022609 A1, 19.02.2015. GB 2483736 A,
21.03.2012. RU 2421224 C2, 20.06.2011. RU
2015125307 A, 10.01.2017.

(54) КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

(57) Реферат:

Изобретение относится к способу лечения ER α -положительного рака молочной железы у нуждающегося в этом пациента, предусматривающему введение пациенту комбинации эффективного количества ингибитора ER α , выбранного из группы, состоящей из (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамида или его фармацевтически приемлемой соли, и эффективного количества ингибитора CDK 4/6, выбранного из группы, состоящей из 6-ацетил-8-цикlopентил-5-метил-2-{[5-(пиперазин-

1-ил)пиридин-2-ил]амино}пиридо[2,3-d]пиrimидин-7(8Н)-она (палбоциклиба); N-(5-((4-этилпиперазин-1-ил)метил)пиридин-2-ил)-5-фтор-4-(4-фтор-1-изопропил-2-метил-1Н-бензо[d]имидазол-6-ил)пиридин-2-амина (абемациклиба); идиметиламида 7-цикlopентил-2-(5-пиперазин-1-илпиридин-2-иламино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиrimидин-6-карбоновой кислоты (рибоциклиба) или его фармацевтически приемлемой соли, а также к применению такой комбинации и фармацевтическому составу, содержащему такую комбинацию для лечения ER α -положительного рака молочной железы. 4

R U 2 7 6 4 7 2 4 C 2

н. и 33 з.п. ф-лы, 9 ил., 4 пр.

R U 2 7 6 4 7 2 4 C 2

R U 2 7 6 4 7 2 4 C 2

R U 2 7 6 4 7 2 4 C 2

RUSSIAN FEDERATION



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) RU (11) 2 764 724⁽¹³⁾ C2

(51) Int. Cl.
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/445 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61K 45/06 (2021.05); *A61K 31/519* (2021.05); *A61K 31/445* (2021.05); *A61P 35/00* (2021.05)

(21)(22) Application: 2019132893, 16.03.2018

(24) Effective date for property rights:
16.03.2018

Registration date:
19.01.2022

Priority:

(30) Convention priority:
16.03.2017 US 62/472,345

(43) Application published: 16.04.2021 Bull. № 11

(45) Date of publication: 19.01.2022 Bull. № 2

(85) Commencement of national phase: 16.10.2019

(86) PCT application:
US 2018/022961 (16.03.2018)

(87) PCT publication:
WO 2018/170447 (20.09.2018)

Mail address:
119019, Moskva, Gogolevskij bulvar, 11, Gizatullin
Shamil Fajzievich

(72) Inventor(s):

KARR, Craig D. (US),
KORPAL, Manav (US),
RIOUX, Nathalie (US),
SMITH, Peter Gerard (US)

(73) Proprietor(s):

EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD. (JP)

(54) COMBINATION THERAPY FOR TREATMENT OF MAMMARY GLAND CANCER

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to a method for the treatment of ER α -positive mammary gland cancer in a patient who needs it, including the injection to the patient of a combination of the effective amount of Era inhibitor selected from a group consisting of (E)-N,N-dimethyl-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-trifluoro-1-(3-fluoro-1H-indazol-5-yl)-2-phenylbut-1-en-1-yl)pyridin-2-yl)oxy)ethyl)amino)but-2-enamide or its pharmaceutically acceptable salt, and the effective amount of CDK 4/6 inhibitor selected from a group consisting of 6-acetyl-8-cyclopentyl-5-methyl-2-{{[5-(piperazin-1-yl)pyridin-2-yl]amino}pyrido[2,3-d]pyrimidin-7(8H)-one

(Palbociclib); N-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-5-fluoro-4-(4-fluoro-1-isopropyl-2-methyl-1H-benzo[d]imidazole-6-yl)pyrimidin-2-amine (abemaciclib); 7-cyclopentyl-2-(5-piperazin-1-ylpyridin-2-ylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylic acid idimethylamide (ribociclib) or its pharmaceutically acceptable salt, as well as to the use of such a combination and a pharmaceutical composition containing such a combination for the treatment of Era-positive mammary gland cancer.

EFFECT: obtaining a composition for the treatment of mammary gland cancer.

37 cl, 9 dwg, 4 ex

Ссылка на родственные заявки

По настоящей заявке испрашивается приоритет в соответствии с предварительной заявкой на патент США № 62/472455, поданной 16 марта 2017 г. Настоящая заявка включена в настоящий документ посредством ссылки.

5 Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

На сегодняшний день рак молочной железы представляет собой наиболее часто диагностируемое злокачественное новообразование среди женщин: ежегодно в США/ во всем мире диагностируется приблизительно 200000/1,7 миллиона новых случаев, соответственно. Поскольку приблизительно 70% опухолей молочной железы являются

10 положительными по отношению к альфа-рецептору эстрогена (ER α) - ключевому онкогенному фактору в этом подмножестве опухолей (Spicer DV & Pike MC. Breast cancer prevention through modulation of endogenous hormones. *Breast Cancer Res Treat.* 1993; 28: 179-193) - было разработано несколько классов терапии для противодействия функции ER α , включая в себя 1) селективные регуляторы подавления рецепторов

15 эстрогена (SERD), примером которых является фулвестрант, 2) селективные модуляторы рецепторов эстрогена (SERM), из которых примером является тамоксифен, и 3) ингибиторы ароматазы, которые снижают системное содержание эстрогена. Эти способы были в значительной степени эффективны в клинике, уменьшая частоту возникновения и прогрессирование ER α + опухолей молочной железы. Однако наблюдаются

20 существенные отрицательные особенности, связанные с этими различными классами соединений. Например, было показано, что тамоксифен активирует сигнальную активность в эндометрии, приводя к увеличению риска рака эндометрия в клинике (Fisher et al., (1994) *J. Natl Cancer Inst. Apr* 6; 86(7):527-37; van Leeuwen et al., (1994) *Lancet Feb* 19; 343(8895):448-52). Напротив, поскольку фулвестрант является чистым

25 антагонистом, это может привести к потере плотности кости у женщин в постменопаузе, поскольку активность ER α является критической для формирования костей. В дополнение к существенным побочным эффектам, также начинает проявляться клиническая резистентность к этим классам антагонистов ER α , подчеркивая необходимость разработки соединений следующего поколения.

30 Несколько механизмов резистентности были идентифицированы с использованием моделей резистентности *in vitro* и *in vivo* к различным эндокринным способам лечения. К ним относятся повышенное «взаимовлияние» ER α /HER2 (Shou et al., Mechanisms of tamoxifen resistance: increased estrogen receptor-HER2/neu cross-talk in ER/HER2-positive breast cancer (2004) *J Natl Cancer Inst. Jun* 16; 96(12):926-35), aberrantная экспрессия

35 коактиваторов/корепрессоров ER α (Osborne et al., Role of the estrogen receptor coactivator AIB1 (SRC-3) and HER-2/neu in tamoxifen resistance in breast cancer (2003) *J Natl Cancer Inst. Mar* 5; 95(5):353-61) или потеря ER α в целом для обеспечения ER-независимого роста (Osborne CK, Schiff R (2011) *Annu Rev Med* 62: 233-47).

40 В надежде на выявление клинически значимых механизмов резистентности в последнее время также были предприняты большие усилия для глубокой характеристики генетики резистентных к эндокринной терапии метастазов, выделенных у пациентов. Несколько независимых лабораторий недавно опубликовали множество генетических повреждений, наблюдаемых в резистентных и первичных опухолях (Li et al., Endocrine-therapy-resistant ESR1 variants revealed by genomic characterization of breast-cancer-derived xenografts (2013) *Cell Rep. Sep* 26; 4(6):1116-30; Robinson et al., Activating ESR1 mutations in hormone-resistant metastatic breast cancer (2013) *Nat Genet. Dec*; 45(12):1446-51; Toy et al., ESR1 ligand-binding domain mutations in hormone-resistant breast cancer (2013) *Nat Genet. 2013 Dec*; 45(12): 1439-45). Среди них наблюдаются высокорецидивные мутации в лиганд-связывающем домене

ESR1 (ген, который кодирует белок ER α), которым, как обнаружено, значительно обогащены приблизительно 30% резистентных опухолей по сравнению с наивными в отношении эндокринной терапии опухолями (Jeselsohn et al., Emergence of constitutively active estrogen receptor-alpha mutations in pretreated advanced estrogen receptor-positive breast cancer (2014) Clin Cancer Res. Apr 1; 20(7):1757-67; Li et al., (2013) Cell Rep. Sep 26; 4(6): 1116-30; Toy et al., (2013) Nat Genet. 2013 Dec; 45(12):1439-45; Robinson et al., (2013) Nat Genet. Dec; 45(12):1446-51; Merenbakh-Lamin et al., D538G mutation in estrogen receptor-alpha: A novel mechanism for acquired endocrine resistance in breast cancer (2013) Cancer Res. Dec 1; 73(23):6856-64; Yu et al., Cancer therapy. Ex vivo culture of circulating breast tumor cells for individualized testing of drug susceptibility (2014) Science Jul 11; 345(6193):216-20; Segal and Dowsett Estrogen receptor mutations in breast cancer-new focus on an old target (2014), Clin Cancer Res Apr 1; 20(7):1724-26; Chandarlapaty et al., Prevalence of ESR1 Mutations in Cell-Free DNA and Outcomes in Metastatic Breast Cancer: A Secondary Analysis of the BOLERO-2 Clinical Trial. JAMA Oncol. (2016) 2:1310-1315), предполагая потенциал этих мутаций для функционального стимулирования клинической резистентности.

Высокорецидивные мутации в лиганд-связывающем домене ESR1 связаны с более агрессивной биологией заболевания с более короткой общей выживаемостью по сравнению с ESR1 дикого типа (Chandarlapaty et al., (2016)). Кроме того, мутации ER α (ER α ^{MUT}) приводят к конститутивной активации ER α и придают резистентность к существующим классам эндокринной терапии. Тот факт, что современные эндокринные терапии эффективны лишь частично в условиях ER α ^{MUT}, и поскольку значительная часть метастазов, устойчивых к эндокринной терапии, по-прежнему остаются зависимыми от передачи сигналов ER α для роста/выживания, указывает на постоянную необходимость: 1) разработки следующего поколения ER α терапии, которая может преодолеть аберрантную активность ER α ^{WT}/ER α ^{MUT}, и/или 2) идентификации и нацеливания на клеточные пути, которые могут дополнительно повысить эффективность антиэстрогенной терапии в клинике.

Несмотря на успехи в лечении рака молочной железы и особенно ER α -положительного рака молочной железы, существует необходимость в улучшенном лечении рака молочной железы.

Краткое раскрытие настоящего изобретения

Варианты осуществления предусматривают комбинированную терапию, содержащую эффективное количество соединения 1 и эффективное количество ингибитора CDK4/6. Дополнительные варианты осуществления могут предусматривать комбинированную терапию, содержащую эффективное количество соединения 2 или соединения 3 и эффективное количество ингибитора CDK 4/6. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой палбоциклиб. Согласно другим вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой рибоциклиб. Согласно другим вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой абемациклиб. Предлагаемая в настоящем документе комбинированная терапия может привести к усилению снижения жизнеспособности клеток рака молочной железы и может привести к ингибированию роста опухоли рака молочной железы у нуждающихся в лечении пациентов. Согласно некоторым вариантам осуществления клетки рака молочной железы представляют собой ER-положительные клетки рака молочной железы.

Варианты осуществления могут предусматривать способ лечения рака молочной железы у нуждающегося в этом пациента, предусматривающий введение пациенту комбинации (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-

- 2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамида или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемой соли. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозировке от 50 мг до 1000 мг. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозировке от 50 мг до 500 мг.
- 10 Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозировке от 50 мг до 300 мг.

Варианты осуществления могут предусматривать способ лечения рака молочной

- 15 железы у нуждающегося в этом пациента, предусматривающий введение пациенту комбинации (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамида или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемой соли. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозировке от 50 мг до 1000 мг. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозировке от 50 мг до 500 мг. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозировке от 50 мг до 300 мг.

Варианты осуществления могут предусматривать способ лечения рака молочной железы у нуждающегося в этом пациента, предусматривающий введение пациенту

- 30 комбинации (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамида или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемой соли. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозировке от 50 мг до 1000 мг. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозировке от 50 мг до 500 мг. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозировке от 50 мг до 300 мг.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 выбирают, например, из следующего: 6-ацетил-8-циклопентил-5-метил-2-{[5-(пиперазин-1-ил)

- 45 пиридин-2-иламино}пиридо[2,3-d]пиrimидин-7(8Н)-он (палбоциклиб); диметиламид 7-циклопентил-2-(5-пиперазин-1-илпиридин-2-иламино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиrimидин-6-карбоновой кислоты (рибоциклиб) и N-(5-((4-этилпиперазин-1-ил)метил)пиридин-2-ил)-5-фтор-4-(4-фтор-1-изопропил-2-метил-1Н-бензо[d]имида-6-ил)пиrimидин-2-амин

(абемациклиб).

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой палбоциклиб. Палбоциклиб можно вводить, например, в дозировке 75, 100 или 125 мг/день. Как правило, дозировку вводят перорально в виде одной капсулы в течение 5 21 дня подряд с последующим 7-дневным периодом без лечения.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой рибоциклиб. Рибоциклиб можно вводить, например, в дозировке 200, 400 или 600 мг/день. Как правило, рибоциклиб вводят перорально в виде капсул или таблеток по 200 мг в течение 21 дня подряд, после чего следует 7-дневный период без лечения.

10 Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой абемациклиб. Абемациклиб можно вводить, например, в дозировке 200, 300 или 400 мг/день. Как правило, абемациклиб вводят два раза в день в дозировках 100, 150 или 200 мг/дозу. Абемациклиб, как правило, вводят в течение 21 дня подряд или 28 дней подряд, после чего следует 7-дневный период без лечения.

15 Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой G1T-38 (2'-(5-(4-изопропилпiperазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7',8'-дигидро-6'Н-спиро[циклогексан-1,9'-пиразино[1',2':1,5]пирроло[2,3-d]пиrimидин]-6'-он дигидрохлорид). G1T-38 можно вводить, например, в дозировках 10 мг/кг, 50 мг/кг, 100 мг/кг, 200 мг/кг, 300 мг/кг, 500 мг/кг или в диапазоне 10-500 мг/кг или 50-300 мг/кг.

20 Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой G1T-28 (2'-(5-(4-метилпiperазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7',8'-дигидро-6'Н-спиро[циклогексан-1,9'-пиразино[1',2':1,5]пирроло[2,3-d]пиrimидин]-6'-он). G1T-28 можно вводить, например, в дозировках от 190 до 200 мг/м².

25 Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой AT-7519. AT-7519 можно вводить, например, в дозировках от 14,4 до 32,4 мг/м². AT-7519 можно вводить каждые три недели, когда лекарственное средство вводят в дни 1, 4, 8 и 11. Согласно одному варианту осуществления доза составляет 27 мг/м² при данных выше частотах.

30 Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой FLX-925. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой альвоцидиб. Альвоцидиб можно вводить, например, в количествах от 8 до 122 мг/м². Альвоцидиб можно вводить в виде 72-часовой инфузии. Максимальные 35 переносимые дозы альвоцидиба были зарегистрированы как 40, 50 или 78 мг/м².

Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((2)-4,4,4-трифттор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде отдельных составов. Как правило, время между приемами каждого состава не превышает 12 часов. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифттор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде одного состава. Согласно некоторым 40 вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифттор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят последовательно с другими видами лечения. Согласно 45 некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифттор-1-

(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят одновременно.

Согласно некоторым вариантам осуществления форма (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-(

5 (Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамида представляет собой форму свободного основания. Согласно некоторым вариантам осуществления вводимая форма (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамида представляет собой форму гидрохлоридной соли.

10 Дополнительные варианты осуществления могут предусматривать фармацевтическую композицию, содержащую (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамида представляет собой форму свободного основания. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамида представляет собой форму гидрохлоридной соли.

15 20 Дополнительные варианты осуществления могут предусматривать использование комбинации (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамида или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора CDK 4/6 при лечении рака молочной железы. Дополнительные варианты осуществления могут предусматривать 25 использование комбинации (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамида или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора CDK 4/6 при получении лекарственного средства для лечения рака молочной железы.

25 Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде отдельных составов. Как правило, время между приемами каждого состава не превышает 12 часов. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят последовательно с другими видами лечения. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят одновременно.

40 45 Согласно некоторым вариантам осуществления вводимая форма (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамида представляет собой форму свободного основания. Согласно некоторым вариантам осуществления вводимая форма (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-

1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамида представляет собой форму гидрохлоридной соли.

Дополнительные варианты осуществления могут предусматривать фармацевтическую композицию, содержащую (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил) фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль. Согласно

- 5 некоторым вариантам осуществления (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамид представляет собой форму свободного основания. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамид представляет собой форму гидрохлоридной соли.

Дополнительные варианты осуществления могут предусматривать использование комбинации (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамида или его фармацевтически приемлемой соли и

- 15 ингибитора CDK 4/6 при лечении рака молочной железы. Дополнительные варианты осуществления могут предусматривать использование комбинации (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамида или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора CDK 4/6 при получении лекарственного средства для лечения рака молочной железы.

- 20 Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде отдельных составов. Как правило, время между приемами каждого состава не превышает 12 часов. Согласно некоторым 25 вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводятся в виде одного состава. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят последовательно с другими видами лечения. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят одновременно.

- 30 Согласно некоторым вариантам осуществления вводимая форма (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамид представляет собой форму свободного основания. Согласно некоторым вариантам осуществления вводимая форма (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамид представляет собой форму гидрохлоридной соли.

- 35 Дополнительные варианты осуществления могут предусматривать фармацевтическую композицию, содержащую (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)

этил)амино)бут-2-енамид представляет собой форму свободного основания. Согласно некоторым вариантам осуществления (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамид представляет собой форму гидрохлоридной соли.

- 5 Дополнительные варианты осуществления могут предусматривать использование комбинации (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамида или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора CDK 4/6 при лечении рака молочной железы.
- 10 Дополнительные варианты осуществления могут предусматривать использование комбинации (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамида или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора CDK 4/6 при получении лекарственного средства для лечение рака молочной железы.

Краткое описание графических материалов

15 На фиг. 1 показана жизнеспособность клеток MCF7.6, обработанных в течение 144 часов различными дозами соединения 1 и палбоциклиба. Соединение 1 и палбоциклиб синергически ингибируют рост клеток MCF7.6 *in vitro*. Ингибиование жизнеспособности клеток измеряли с использованием CellTiter-Glo, а программное обеспечение Chalice использовали для расчета избыточного ингибиования по сравнению с аддитивностью

20 по Леве для каждой комбинации доз соединения 1 и палбоциклиба.

На фиг. 2 показана жизнеспособность клеток MCF7.7, обработанных в течение 144 часов различными дозами соединения 1 и палбоциклиба. Соединение 1 и палбоциклиб синергически ингибируют рост клеток MCF7.7 *in vitro*. Ингибиование жизнеспособности клеток измеряли с использованием CellTiter-Glo, а программное обеспечение Chalice

25 использовали для расчета избыточного ингибиования по сравнению с аддитивностью по Леве для каждой комбинации доз соединения 1 и палбоциклиба.

На фиг. 3 показаны клетки ST941, обработанные в течение 144 часов различными дозами соединения 1 и палбоциклиба. Соединение 1 и палбоциклиб синергически ингибируют рост клеток ST941 *in vitro*. Ингибиование жизнеспособности клеток измеряли с использованием CellTiter-Glo, а программное обеспечение Chalice

30 использовали для расчета избыточного ингибиования по сравнению с аддитивностью по Леве для каждой комбинации доз соединения 1 и палбоциклиба.

На фиг. 4 показаны клетки MCF7.6, обработанные в течение 144 часов различными дозами соединения 2 и палбоциклиба. Соединение 2 и палбоциклиб синергически ингибируют рост клеток MCF7.6 *in vitro*. Ингибиование жизнеспособности клеток измеряли с использованием CellTiter-Glo, а программное обеспечение Chalice

35 использовали для расчета избыточного ингибиования по сравнению с аддитивностью по Леве для каждой комбинации доз соединения 2 и палбоциклиба.

На фиг. 5 показаны клетки MCF7.7, обработанные в течение 144 часов различными дозами соединения 2 и палбоциклиба. Соединение 2 и палбоциклиб синергически ингибируют рост клеток MCF7.7 *in vitro*. Ингибиование жизнеспособности клеток измеряли с использованием CellTiter-Glo, а программное обеспечение Chalice

40 использовали для расчета избыточного ингибиования по сравнению с аддитивностью по Леве для каждой комбинации доз соединения 2 и палбоциклиба.

На фиг. 6 показаны клетки ST941, обработанные в течение 144 часов различными дозами соединения 2 и палбоциклиба. Соединение 2 и палбоциклиб синергически ингибируют рост клеток ST941 *in vitro*. Ингибиование жизнеспособности клеток измеряли с использованием CellTiter-Glo, а программное обеспечение Chalice

использовали для расчета избыточного ингибиования по сравнению с аддитивностью по Леве для каждой комбинации доз соединения 2 и палбоциклиба.

На фиг. 7 показаны клетки MCF7.7, обработанные в течение 144 часов различными дозами соединения 3 и палбоциклиба. Соединение 3 и палбоциклиб синергически ингибируют рост клеток MCF7.7 *in vitro*. Ингибиование жизнеспособности клеток измеряли с использованием CellTiter-Glo, а программное обеспечение Chalice использовалось для расчета избыточного ингибиования по сравнению с аддитивностью по Леве для каждой комбинации доз соединения 3 и палбоциклиба.

На фиг. 8 показаны противоопухолевые эффекты (слева) и влияние на массу тела

10 (справа) перорального соединения 1 и палбоциклиба у самок голых мышей с подкожными полученными от пациентов с раком молочной железы ST941

ксенотрансплантатами опухоли молочной железы, несущими ER α ^{WT/Y537S}. Соединение 1 в дозе 3 мг/кг и палбоциклиб в дозе 25 мг/кг или 75 мг/кг давали перорально QD.

15 Данные представляют собой среднее значение \pm SEM (объем опухоли и масса тела) (N=8). *P<0,0001 по сравнению с контролем-наполнителем в день 38 (двуихфакторный дисперсионный анализ с последующим тестом Тьюки).

На фиг. 9 показаны противоопухолевые эффекты (слева) и влияние на массу тела перорального соединения 1 и палбоциклиба у самок голых мышей с подкожными

20 полученными от пациентов с раком молочной железы ST941 ксенотрансплантатами опухоли молочной железы, несущими ER α ^{WT/Y537S}. Соединение 1 в дозе 10 мг/кг и палбоциклиб в дозе 25 мг/кг или 75 мг/кг давали перорально QD. Данные представляют собой среднее значение \pm SEM (объем опухоли и масса тела) (N=8). *P<0,0001 по сравнению с контролем-наполнителем в день 38 (двуихфакторный дисперсионный анализ с последующим тестом Тьюки).

25 Подробное описание вариантов осуществления

В настоящем документе представлены комбинированные терапии одного или нескольких ингибиторов ER- α и одного или нескольких ингибиторов CDK 4/6, которые могут быть применимы при лечении рака молочной железы. Согласно некоторым

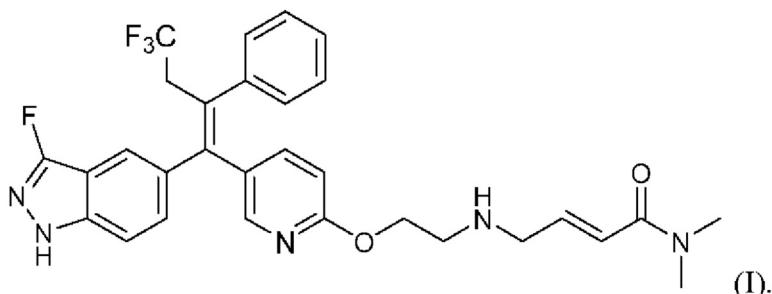
30 вариантам осуществления рак молочной железы является ER- α +. Согласно вариантам осуществления рак молочной железы экспрессирует мутацию ER- α , которая может представлять собой L536Q (Robinson et al. Nat Genet. 2013 Dec; 45(12)), L536R (Toy et al. Nat Genet. 2013 Dec; 45(12): 1439-45), Y537S (Toy et al. Nat Genet. 2013 Dec; 45(12): 1439-45; Robinson et al. Nat Genet. 2013 Dec; 45(12); Jeselsohn et al. Clin Cancer Res. 2014 Apr 1; 20(7): 1757-67), Y537N (Toy et al. Nat Genet. 2013 Dec; 45(12): 1439-45; Jeselsohn et al. Clin 35 Cancer Res. 2014 Apr 1; 20(7): 1757-67), Y537C (Toy et al. Nat Genet. 2013 Dec; 45(12): 1439-45; Jeselsohn et al. Clin Cancer Res. 2014 Apr 1; 20(7): 1757-67) и D538G (Toy et al. Nat Genet. 2013 Dec; 45(12):1439-45; Robinson et al. Nat Genet. 2013 Dec; 45(12); Jeselsohn et al. Clin 40 Cancer Res. 2014 Apr 1; 20(7): 1757-67; Merenbakh-Lamin et al. Cancer Res. 2013 Dec 1;73(23) :6856-64), все из которых полностью включены посредством ссылки для представлений об ER- α мутациях.

Таким образом, раскрытие в настоящем документе комбинации могут быть также применимы для лечения дополнительных показаний и генотипов. Мутации ESR1 (Y537C/N) были недавно обнаружены в 4 из 373 случаев рака эндометрия (Kandoth et al. Nature 45 2013 May 2; 497(7447):67-73; Robinson et al. Nat Genet. 2013 Dec;45(12)). Поскольку было показано, что мутации ESR1 Y537C/N в значительной степени стимулируют резистентность к представленным на рынке способам лечения SOC, описанные в настоящем документе соединения могут быть применимы для лечения рака эндометрия

ER α ^{MUT}.

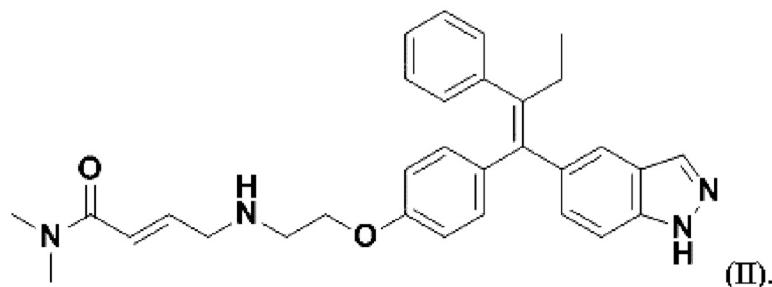
Описанные в настоящем документе варианты осуществления предусматривают ингибирование клеточного цикла с использованием средств, которые нацелены на циклинзависимые киназы (CDK) 4 и 6, что недавно стало эффективным подходом для предотвращения и преодоления резистентности к эндокринной терапии при метастатическом ER-позитивном раке молочной железы (Mancuso and Massarweh, *Endocrine therapy and strategies to overcome therapeutic resistance in breast cancer*. *Curr Probl Cancer*. 2016; 40: 95-105). В отличие от обогащенности мутациями ESR1, наблюдалась в резистентных к терапии опухолях, мутации в других генах, связанных с раком, не показали такого сильной обогащенности, что в значительной степени указывает на важность мутаций ER α в повышении резистентности (Jeselsohn et al., (2014) *Clin Cancer Res*. Apr 1; 20(7): 1757-67).

Соединение 1 представляет собой низкомолекулярный ингибитор ER α со структурой, показанной в формуле I, и с химическим названием (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамид:



Соединение 1 и его синтез описаны в публикации заявки на патент США № US 2016/0347717 A1, опубликованной 1 декабря 2016 г. Этот документ включен в настоящий документ посредством ссылки. При использовании отдельно или в комбинации, как описано в настоящем документе, соединение 1 можно вводить пациентам в любом из следующих суточных дозированных количеств: от 50 мг до 1000 мг; от 50 мг до 500 мг; от 50 мг до 300 мг; 50 мг, 100 мг, 200 мг, 300 мг, 500 мг или 1000 мг. Индивидуальное дозированное количество может составлять от 50 до 1000 мг; от 50 мг до 500 мг; от 50 мг до 300 мг; 50 мг, 100 мг, 200 мг, 300 мг, 500 мг или 1000 мг. Суточная дозировка может представлять собой часть циклической схемы. Согласно некоторым вариантам осуществления циклическая схема длится 14 дней или 21 день. Суточное дозированное количество может быть введено в виде одной дозировки или нескольких дозировок.

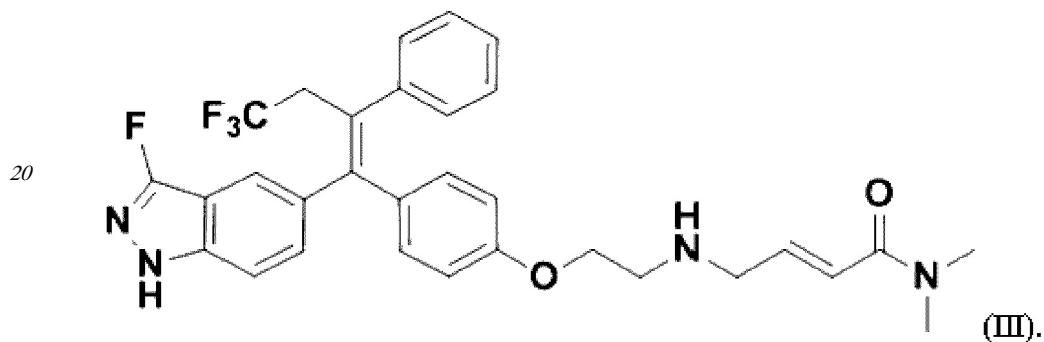
Соединение 2 представляет собой низкомолекулярный ингибитор ER α со структурой, показанной в формуле II, и с химическим названием (E)-4-((2-(4-((E)-1-(1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамид:



Соединение 2 и его синтез описаны в публикации заявки на патент США № US 2016/0347717 A1, опубликованной 1 декабря 2016 г. Соединение 2 также можно использовать

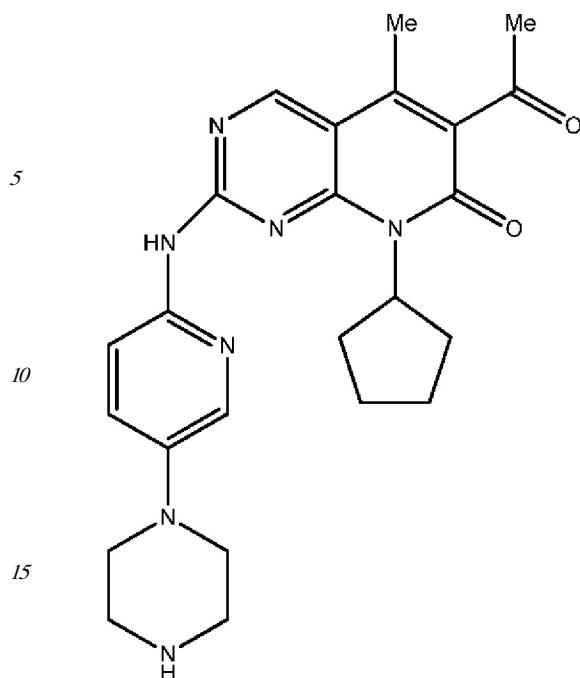
отдельно или в комбинациях, описанных в настоящем документе, для лечения рака молочной железы, включая в себя ERα+ рак молочной железы. При использовании отдельно или в комбинации, как описано в настоящем документе, соединение 2 можно вводить пациентам в любом из следующих суточных дозированных количеств: от 50 5 мг до 1000 мг; от 50 мг до 500 мг; от 50 мг до 300 мг; 50 мг, 100 мг, 200 мг, 300 мг, 500 мг или 1000 мг. Индивидуальное дозированное количество может составлять от 50 до 1000 мг; от 50 мг до 500 мг; от 50 мг до 300 мг; 50 мг, 100 мг, 200 мг, 300 мг, 500 мг или 1000 мг. Суточная дозировка может представлять собой часть циклической схемы. Согласно некоторым вариантам осуществления циклическая схема длится 14 дней или 10 21 день. Суточное дозированное количество может быть введено в виде одной дозировки или нескольких дозировок.

Соединение 3 представляет собой низкомолекулярный ингибитор ERα со структурой, показанной в формуле III, и с химическим названием (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифторметил-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси) этил)амино)бут-2-енамид:



Соединение 3 и его синтез описаны в публикации заявки на патент США № US 2016/0347717 A1, опубликованной 1 декабря 2016 г. Соединение 3 также можно использовать отдельно или в комбинациях, описанных в настоящем документе, для лечения рака молочной железы, включая в себя ERα+ рак молочной железы. При использовании отдельно или в комбинации, как описано в настоящем документе, соединение 3 можно вводить пациентам в любом из следующих суточных дозированных количеств: от 50 25 мг до 1000 мг; от 50 мг до 500 мг; от 50 мг до 300 мг; 50 мг, 100 мг, 200 мг, 300 мг, 500 мг или 1000 мг. Индивидуальное дозированное количество может составлять от 50 до 1000 мг; от 50 мг до 500 мг; от 50 мг до 300 мг; 50 мг, 100 мг, 200 мг, 300 мг, 500 мг или 1000 мг. Суточная дозировка может представлять собой часть циклической схемы. Согласно некоторым вариантам осуществления циклическая схема длится 14 дней или 30 21 день. Суточное дозированное количество может быть введено в виде одной дозировки или нескольких дозировок.

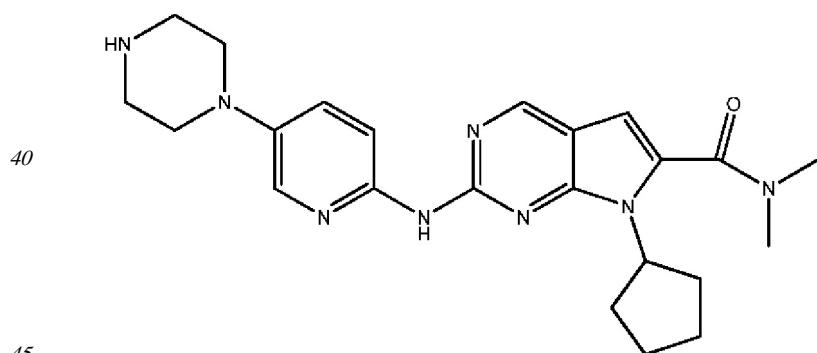
Палбоциклиб (6-ацетл-8-цикlopентил-5-метил-2-{[5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил]амино}пиридо[2,3-d]пиrimидин-7(8H)-1) представляет собой одобренный FDA ингибитор 40 циклинзависимой киназы (CDK) 4 и 6. Палбоциклиб характеризуется следующей структурой:



Смотрите патенты США №6936612; 7208489 и 7456168, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. Палбоциклиб продемонстрировал активность при метастатических заболеваниях как первой, так и второй линии в сочетании с эндокринной терапией, что приводит к значительным улучшениям PFS, что позволяет предположить, что комбинированная терапия может отсрочить возникновение резистентности у пациентов, получающих эндокринную терапию (Finn et al., The cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitor palbociclib in combination with letrozole versus letrozole alone as first-line treatment of oestrogen receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer (PALOMA-1/TRIO-18): a randomised phase 2 study. Lancet Oncol. (2015) 16(1): 25-35).

Недавно, клиническое исследование III фазы PALOMA-3 также показало значительную активность палбоциклиба в комбинации с фулвестрантом у пациентов, которые прогрессировали на лечении ингибитором ароматазы, предполагая, что комбинация может также служить жизнеспособной стратегией для преодоления устойчивости к эндокринной терапии.

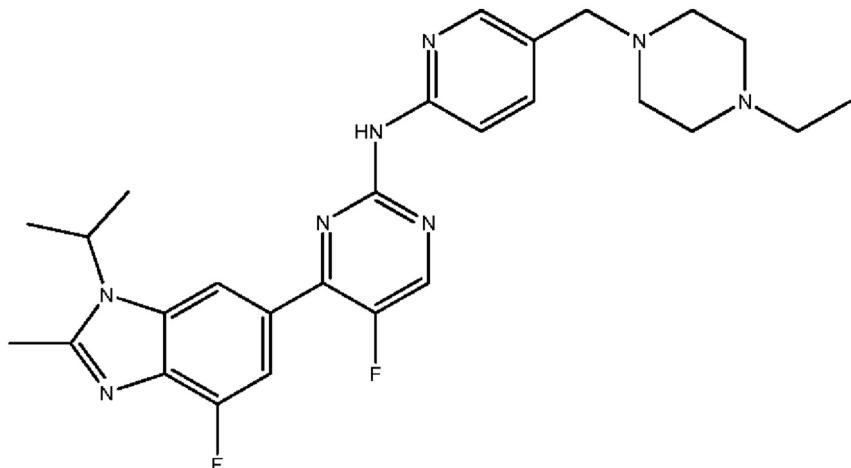
Рибоциклиб (диметиламид 7-цикlopентил-2-(5-пиперазин-1-ил-пиридин-2-иламино)-7H-пирроло[2,3-d]пиридин-6-карбоновой кислоты) представляет собой одобренный FDA ингибитор циклинзависимой киназы (CDK) 4 и 6. Рибоциклиб характеризуется следующей структурой:



Смотрите публикацию заявки на патент США № US 20120115878, публикацию РСТ № WO 2007140222, публикацию РСТ № WO 2012061156; публикацию РСТ № WO 2011130232; публикацию РСТ № WO 2011101417 и публикацию РСТ № WO 2010020675,

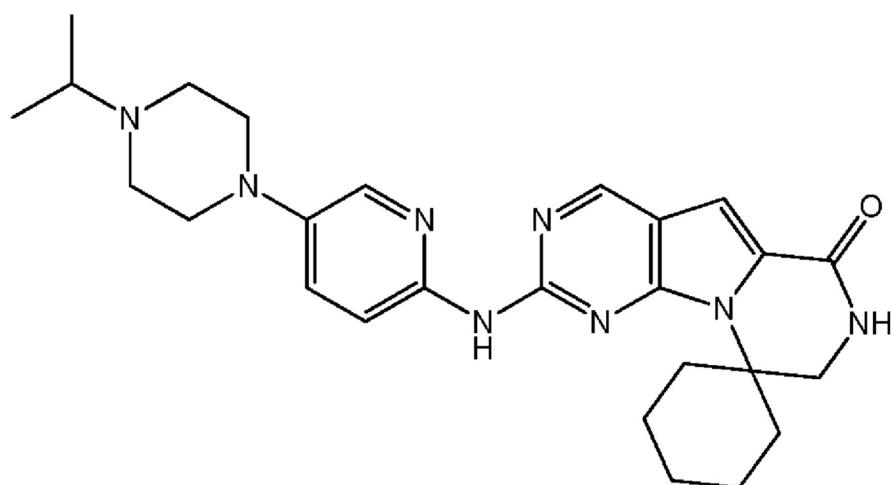
все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

Абемациклиб представляет собой ингибитор CDK 4/6 с названием N-((4-этилпиперазин-1-ил)метил)пиридин-2-ил)-5-фтор-4-(4-фтор-1-изопропил-2-метил-1Н-бензо[d]имида⁵зол-6-ил)пиrimидин-2-амин. Абемациклиб характеризуется следующей структурой:



Смотрите O'Leary, et al., "Treating Cancer with Selective CDK 4/6 Inhibitors" Nat. Rev. (опубликовано онлайн 31 марта 2016 г.); публикацию PCT № WO 2016110224, 20 публикацию заявки на патент США №20100160340 и публикацию PCT № WO 2016025650, все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

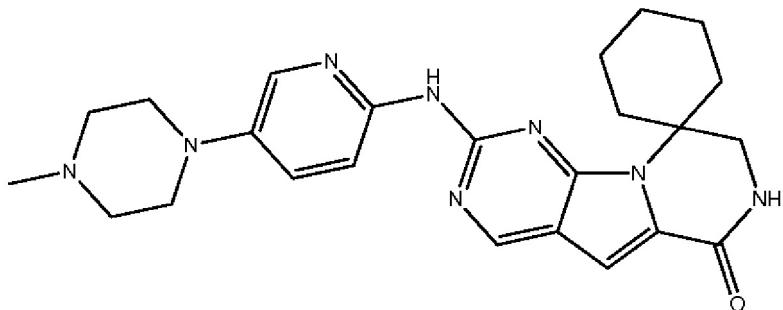
G1T-38 (также называемый GZ-38-1 или G1T38-1) представляет собой зарегистрированный ингибитор CDK 4/6. О G1T-38, который изучается G1 Therapeutics, Inc., Research Triangle Park, Северная Каролина, сообщается в аннотации №2824 ежегодного собрания AACR 2016 г., которое проходит 16-20 апреля в Новом Орлеане, Луизиана, под названием «G1T38, Новый, оральный, мощный и селективный ингибитор CDK 4/6 для лечения компетентных опухолей RB», J.J. Sorrentino, J. Bisi, P. Roberts и J. Strum. Этот документ включен в настоящий документ посредством ссылки. G1T38 25 характеризуется химическим названием 2'-((5-(4-изопропилпиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7',8'-дигидро-6'Н-спиро[циклогексан1,9'пиразино[1',2':1,5]пирроло[2,3-d]пиrimидин]-6'-он дигидрохлорид и структурой, изложенной ниже:



Смотрите Bisi, et al., "Preclinical development of G1T38: A novel, potent and selective inhibitor of cyclin dependent kinases 4/6 for use as an oral antineoplastic in patients with CDK4/6 sensitive tumors," Oncotarget, Advance Publications 2017 (March 15, 2017); публикацию заявки на патент США № US 20140275066 A1; патент США №9487530 B2 и публикацию

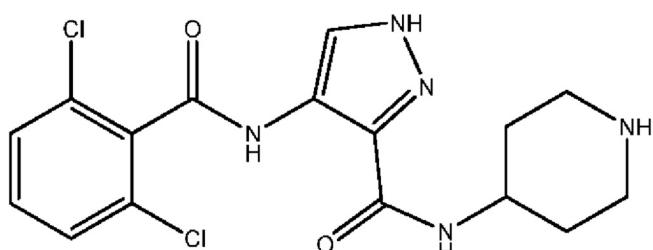
международной патентной заявки PCT № WO 2014144326, все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

5 G1T-28 (также называемый трилациклиб) представляет собой ингибитор CDK 4/6 с названием 2'-((5-(4-метилпиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7',8'-дигидро-6'Н-спиро [циклогексан-1,9'-пиразино[1',2':1,5]пирроло[2,3-d]пиrimидин]-6'-он. G1T-28 характеризуется следующей структурой:



15 Смотрите, например, Bisi, et al., "Preclinical Characterization of G1T28: A Novel CDK4/6 Inhibitor for Reduction of Chemotherapy-induced Myelosuppression" Mol. Cancer Ther.; 15(5) 783-93, May 2016; публикацию заявки на патент США № US 20160220569; публикации Международной заявки на патент PCT № WO 2014144326; WO 2014144847 и WO 2016040848, все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

20 AT-7519 представляет собой ингибитор CDK 4/6 с названием N-(4-пиперидинил)-4-(2,6-дихлорбензоиламино)-1Н-пиразол-3-карбоксамид. AT-7519 характеризуется следующей структурой:

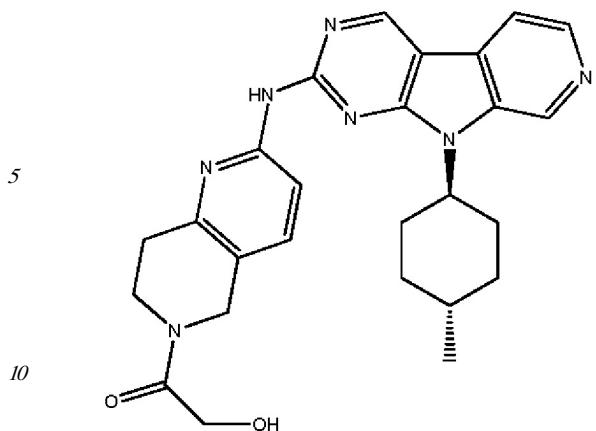


30 Смотрите, например, публикации Международной заявки на патент PCT № WO 2005012256; WO 2006077424; WO 2006077426; WO 2008001101; WO 2006077425; WO 2006077428; WO 2008007113; WO 2008007122 и WO 2008009954, которые включены в настоящий документ посредством ссылки.

35 FLX-925 (также известный как AMG-925) представляет собой ингибитор CDK 4/6 с названием 2-гидрокси-1-[2-[[9-(транс-4-метилциклогексил)-9Н-пиридо[4',3':4,5]пирроло[2,3-d]пиrimидин-2-ил]амино]-7,8-дигидро-1,6-нафтиридин-6(5Н)-ил]этанон. FLX-925 характеризуется следующей структурой:

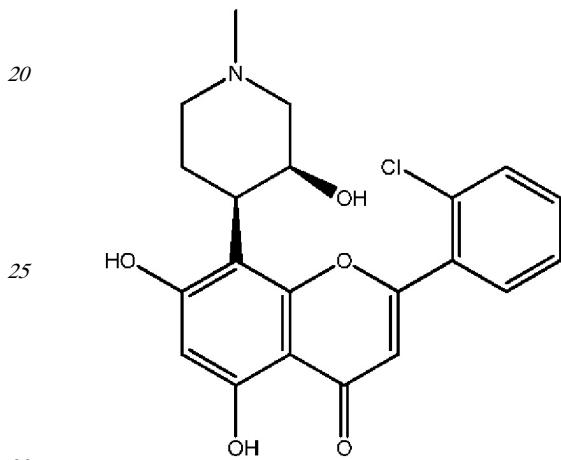
40

45



Смотрите, например, публикацию заявки на патент США №2014163052 и публикации Международной заявки на патент PCT № WO 2012129344, обе из которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

15 Альвоцидип представляет собой ингибитор CDK 4/6 с названием 2-(2-хлорфенил)-5,7-дигидрокси-8-((3S,4R)-3-гидрокси-1-метилпиперидин-4-ил)-4Н-хромен-4-он. Альвоцидип характеризуется следующей структурой:



Смотрите, например, публикацию заявки на патент США № US 2011189175 и US 2011189175; публикации Международной заявки на патент PCT № WO 2000044362; WO 2001041747; WO 2001053293; WO 2001053294; WO 2002022133; WO 2007010946, все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

35 Согласно некоторым вариантам осуществления комбинированная терапия предусматривает введение соединения 1 в комбинации с ингибитором CDK 4/6. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой палбоциклиб. Согласно другим вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой рибоциклиб. Согласно еще другим вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой абемациклиб. Согласно еще другим вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой G1T-38. Согласно другим вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой трилациклиб. Согласно другим вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой AT-7519. Согласно другим вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 представляет собой FLX-925. Согласно другим вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 40 представляет собой альвоцидип.

45

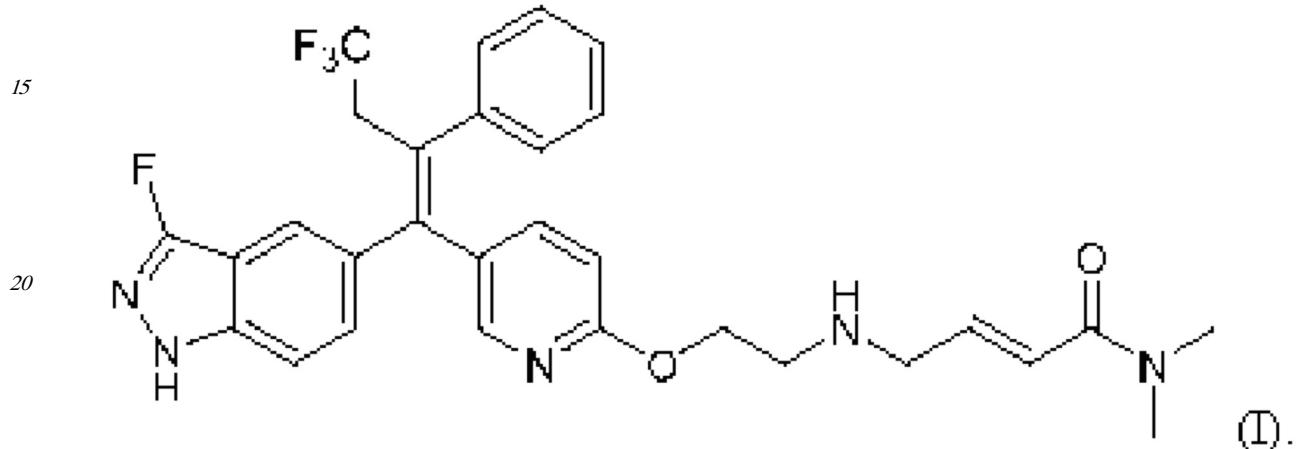
В настоящем документе представлены комбинации терапевтических средств и способы введения комбинации средств для лечения рака молочной железы. Используемый в

настоящем документе термин «комбинация терапевтических средств» и подобные термины относятся к комбинации двух типов терапевтических средств: (1) соединения 1 и/или его фармакологически активных солей и (2) ингибитора CDK 4/6 и/или его фармакологически активных солей. Используемый в настоящем документе термин

5 «комбинация» (включая в себя термин «комбинация терапевтических средств») относится к этим типам терапевтических средств, совместно составленных в одной лекарственной форме, индивидуально составленных и совместно введенных или индивидуально составленных и последовательно введенных.

Соединение 1 представляет собой низкомолекулярный ингибитор ER α со структурой,

10 показанной в формуле I, и с химическим названием (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифторметил-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамид:

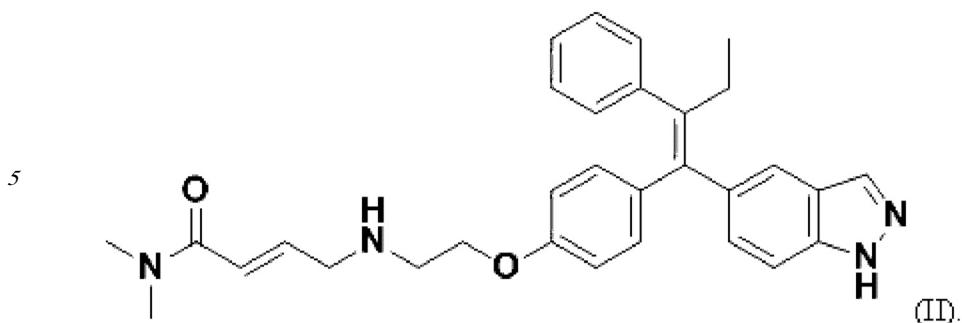


25 Соединение 1 и его синтез описаны в публикации заявки на патент США № US 2016/0347717 A1, опубликованной 1 декабря 2016 г. Этот документ включен в настоящий документ посредством ссылки. Соединение 1 также можно использовать отдельно или в описанных в настоящем документе комбинациях для лечения рака молочной железы, включая в себя ER α + рак молочной железы. При использовании отдельно или в

30 комбинации, как описано в настоящем документе, соединение 1 можно вводить пациентам в любом из следующих суточных дозированных количеств: от 50 мг до 1000 мг; от 50 мг до 500 мг; от 50 мг до 300 мг; 50 мг, 100 мг, 200 мг, 300 мг, 500 мг или 1000 мг. Индивидуальное дозированное количество может составлять от 50 до 1000 мг, от 50 мг до 500 мг; от 50 мг до 300 мг; 50 мг, 100 мг, 200 мг, 300 мг, 500 мг или 1000 мг.

35 Суточная дозировка может представлять собой часть циклической схемы. Согласно некоторым вариантам осуществления циклическая схема длится 14 дней или 21 день. Суточное дозированное количество может быть введено в виде одной дозировки или нескольких дозировок.

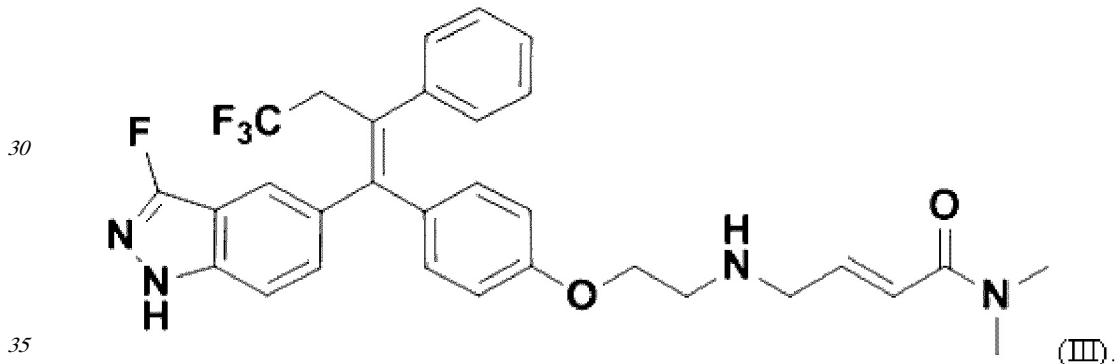
40 Соединение 2 представляет собой низкомолекулярный ингибитор ER α со структурой, показанной в формуле II, и с химическим названием (E)-4-((2-(4-(E)-1-(1H-индазол-5-ил))-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)-N,N-диметилбут-2-енамид:



10 Соединение 2 и его синтез описаны в публикации заявки на патент США № US 2016/0347717 A1, опубликованной 1 декабря 2016 г. Соединение 2 также можно использовать отдельно или в описанных в настоящем документе комбинациях для лечения рака молочной железы, включая в себя ER_α+ рак молочной железы. При использовании отдельно или в комбинации, как описано в настоящем документе, соединение 2 можно вводить пациентам в любом из следующих суточных дозированных количеств: от 50 мг до 1000 мг; от 50 мг до 500 мг; от 50 мг до 300 мг; 50 мг, 100 мг, 200 мг, 300 мг, 500 мг или 1000 мг. Индивидуальное дозированное количество может составлять от 50 до 1000 мг; от 50 мг до 500 мг; от 50 мг до 300 мг; 50 мг, 100 мг, 200 мг, 300 мг, 500 мг или 1000 мг. Суточная дозировка может представлять собой часть циклической схемы.

15 20 Согласно некоторым вариантам осуществления циклическая схема длится 14 дней или 21 день. Суточное дозированное количество может быть введено в виде одной дозировки или нескольких дозировок.

25 Соединение 3 представляет собой низкомолекулярный ингибитор ER_α со структурой, показанной в формуле III, и с химическим названием (E)-N,N-диметил-4-((2-(4-((E)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1H-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)фенокси)этил)амино)бут-2-енамид:



40 Соединение 3 и его синтез описаны в публикации заявки на патент США № US 2016/0347717 A1, опубликованной 1 декабря 2016 г. Этот документ включен в настоящий документ посредством ссылки. Соединение 3 также можно использовать отдельно или в описанных в настоящем документе комбинациях для лечения рака молочной железы, включая в себя ER_α+ рак молочной железы. При использовании отдельно или в комбинации, как описано в настоящем документе, соединение 3 можно вводить пациентам в любом из следующих суточных дозированных количеств: от 50 мг до 1000 мг; от 50 мг до 500 мг; от 50 мг до 300 мг; 50 мг, 100 мг, 200 мг, 300 мг, 500 мг или 1000 мг. Индивидуальное дозированное количество может составлять от 50 до 1000 мг; от 50 мг до 500 мг; от 50 мг до 300 мг; 50 мг, 100 мг, 200 мг, 300 мг, 500 мг или 1000 мг. Суточная дозировка может представлять собой часть циклической схемы. Согласно некоторым вариантам осуществления циклическая схема длится 14 дней или 21 день. Суточное дозированное количество может быть введено в виде одной дозировки или

нескольких дозировок.

Ингибиторы CDK 4/6, подходящие для применения в настоящем изобретении, могут включать в себя, например, рибоциклиб, палбоциклиб и абемациклиб, G1T-38, трилациклиб, AT-7519, FLX-925 и альвоцидиб, а также их фармацевтически приемлемые соли и гидраты.

Введение комбинации терапевтических средств предусматривает введение отдельных терапевтических средств в комбинации в одном составе или стандартной дозированной форме, введение отдельных терапевтических средств комбинации одновременно, но отдельно, или введение отдельных средств комбинации последовательно любым

подходящим путем. Дозировка отдельных терапевтических средств комбинации может потребовать более частого введения одного из средств по сравнению с другим средством в комбинации. Следовательно, для обеспечения соответствующей дозировки упакованные фармацевтические продукты могут содержать одну или несколько дозированных форм, которые содержат комбинацию средств, и одну или несколько дозированных форм, которые содержат одну из комбинаций средств, но не другое средство(а) комбинации.

Как описано в настоящем документе комбинации могут включать в себя варианты осуществления, в которых одно или несколько из соединения 1 и ингибитора CDK 4/6 вводят в виде фармацевтически приемлемой соли или в виде свободного основания. Не требуется, чтобы оба соединения вводились в виде одной и той же фармацевтически приемлемой соли, но это возможно. Согласно конкретным вариантам осуществления комбинации содержат форму свободного основания соединения 1 и форму свободного основания ингибитора CDK 4/6. Согласно другим вариантам осуществления комбинации содержат HCl-форму соединения 1 и HCl-форму ингибитора CDK 4/6. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 может представлять собой свободное основание. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 может представлять собой фармацевтически приемлемую соль. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор CDK 4/6 может представлять собой гидрат.

Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к кислотно-аддитивным солям или основно-аддитивным солям соединений по настоящему изобретению. Фармацевтически приемлемая соль представляет собой любую соль, которая сохраняет активность исходного соединения и не оказывает какого-либо чрезмерно вредного или нежелательного воздействия на субъекта, которому ее вводят, и в контексте, в котором ее вводят. Фармацевтически приемлемые соли включают в себя, без ограничения, комплексы металлов и соли как неорганических, так и карбоновых кислот. Фармацевтически приемлемые соли также включают в себя соли металлов, такие как алюминия, кальция, железа, магния, марганца и комплексные соли. Кроме того, фармацевтически приемлемые соли включают в себя, без ограничения, кислотные соли, такие как уксусная, аспарагиновая, алкилсульфоновая, ацетилсульфоновая, аксетильная, бензолсульфоновая, бензойная, бикарбонатная, бисернокислая, битартарная, масляная, эдетат кальция, камзиловая, угольная, хлорбензойная, лимонная, эдетовая, эдисильная, эстолическая, эсильная, эзильная, муравьиная, фумаровая, глюцептовая, глюконовая, глутаминовая, гликоловая, гликолиларсанильная, гексаминовая, гексилрезорциновая, бромистоводородная, соляная, иодистоводородная, оксиафтойная, изетиновая, молочная, лактобионовая, малеиновая, малоновая, миндальная, метансульфоновая, метилнитратная, метилсульфоновая, муциновая, муконовая, напсильная, азотная, щавелевая, п-нитрометансульфоновая, памовая, пантотеновая, фосфорная, моногидрофосфорная,

дигидрофосфорная, фталевая, полигалактуроновая, пропионовая, салициловая, стеариновая, янтарная, аминосульфоновая, сульфаниловая, сульфоновая, дубильная, винная, теоклиновая, толуолсульфоновая и т.п.

Варианты осуществления могут представлять собой гидрохлоридные соли.

5 Фармацевтически приемлемые соли могут быть получены из аминокислот, включая в себя, без ограничения, цистеин. Способы получения соединений в виде солей известны специалистам в настоящей области техники (смотрите, например, Stahl et al., *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, Wiley-VCH; Verlag Helvetica Chimica Acta, Zurich, 2002; Berge et al., *J. Pharm. Sci.* 66: 1, 1977).

10 «Эффективное количество» комбинации терапевтических средств (например, соединения 1 и ингибитора CDK 4/6) представляет собой количество, достаточное для обеспечения заметного терапевтического эффекта по сравнению с раком молочной железы, оставленным без лечения у субъекта или пациента.

15 Описанные в настоящем документе активные средства могут быть объединены с фармацевтически приемлемым носителем для получения их фармацевтических композиций. Конкретный выбор носителя и состава будет зависеть от конкретного пути введения, для которого предназначена композиция.

20 Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к нетоксичному носителю, вспомогательному средству или наполнителю, который не разрушает фармакологическую активность соединения, с которым оно составлено. Фармацевтические носители, вспомогательные средства или наполнители, которые можно использовать в композициях по настоящему изобретению, включают в себя, без ограничения, сорбиновую кислоту, сорбат калия, частичные глицеридные смеси насыщенных растительных жирных кислот, воду, соли или 25 электролиты, динатрийгидрофосфат, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный кремнезем, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, натрий-карбоксиметилцеллюлозу, полиакрилаты, воски, полиэтиленгликоль и ланолин.

30 Композиции по настоящему изобретению могут быть применимы для парентерального, перорального введения, ингаляционного спрея, местного, ректального, назального, буккального, вагинального введения или имплантированного введения в резервуар и т.д. Согласно некоторым вариантам осуществления состав содержит ингредиенты, полученные из природных или неприродных источников. Согласно некоторым вариантам осуществления состав или носитель может быть представлен в 35 стерильной форме. Неограничивающие примеры стерильного носителя включают в себя воду, не содержащую эндотоксинов, или воду, не содержащую пирогенов.

35 Используемый в настоящем документе термин «парентеральный» включает в себя способы подкожной, внутривенной, внутримышечной, внутрисуставной, внутрисиновиальной, интрастернальной, интрапекальной, внутрипеченочной, 40 внутрипочечной и внутричерепной инъекций или инфузий. Согласно конкретным вариантам осуществления соединения вводят внутривенно, перорально, подкожно или посредством внутримышечного введения. Стерильные инъецируемые формы композиций по настоящему изобретению могут представлять собой водную или масляную супензию. Эти супензии могут быть составлены в соответствии с техниками, известными в 45 настоящей области техники, с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих средств и супендирующих средств. Стерильный инъекционный препарат также может представлять собой стерильный инъекционный раствор или супензию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе. Среди

приемлемых наполнителей и растворителей, которые можно использовать, находятся вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, стерильные жирные масла, как правило, используются в качестве растворителя или супсендирующей среды.

5 Для этой цели можно использовать любое мягкое жирное масло, включая в себя синтетическиеmono- или диглицериды. Жирные кислоты и их глицеридные производные применимы для приготовления инъекционных препаратов, как и натуральные фармацевтически приемлемые масла, такие как оливковое масло или касторовое масло, особенно в их полиоксиэтилированных версиях. Эти масляные растворы или супсензии
10 могут также содержать длинноцепочечный спиртовой разбавитель или диспергатор, такой как карбоксиметилцеллюлоза или аналогичные диспергирующие средства, которые обычно используются в рецептуре фармацевтически приемлемых лекарственных форм, включая в себя эмульсии и супсензии. Другие обычно используемые поверхностно-активные вещества, такие как Tweens, Spans и другие эмульгирующие средства, которые
15 обычно используются при изготовлении фармацевтически приемлемых твердых, жидких или других лекарственных форм, также могут быть использованы для целей составления.

Для перорального введения соединение или соль могут быть представлены в приемлемой пероральной дозированной форме, включая в себя, без ограничения, капсулы, таблетки, водные супсензии или растворы. В случае таблеток для перорального
20 применения, как правило, используемые носители включают в себя лактозу и кукурузный крахмал. Смазывающие средства, такие как стеарат магния, также могут быть добавлены. Для перорального введения в форме капсул применимые разбавители включают в себя лактозу и высушенный кукурузный крахмал. Когда для перорального применения требуются водные супсензии, активный ингредиент можно комбинировать
25 с эмульгирующими и супсендирующими средствами. При желании также могут быть добавлены определенные подсластители, ароматизаторы или красители. Кроме того, могут быть добавлены консерванты. Подходящие примеры фармацевтически приемлемых консервантов включают в себя, без ограничения, различные антибактериальные и противогрибковые средства, такие как растворители, например,
30 этианол, пропиленгликоль, бензиловый спирт, хлорбутанол, соли четвертичного аммония и парабены (такие как метилпарабен, этилпарабен, пропилпарабен и др.).

Под «немедленным высвобождением» подразумевается обычное высвобождение, при котором высвобождение лекарственного средства начинается сразу же после введения. Используемый в настоящем документе термин «немедленное высвобождение»
35 включает в себя лекарственные формы, которые позволяют лекарственному средству растворяться в желудочно-кишечном содержимом без намерения задерживать или продлевать растворение или всасывание лекарственного средства. Задача состоит в том, чтобы лекарственное средство быстро высвобождалось после введения, например, чтобы было возможно высвободить по меньшей мере 80% лекарственного средства в
40 течение приблизительно 30 минут после начала растворения в teste на растворение.

Термин «замедленное высвобождение» или «пролонгированное высвобождение» включает в себя лекарственные формы, характеристики высвобождения лекарственного средства по времени и/или местоположению которых выбираются для достижения терапевтических или удобных целей, не предлагаемых традиционными лекарственными
45 формами, такими как раствор или лекарственная форма с немедленным высвобождением.

Термин «устойчивое состояние» означает, что содержание в плазме для данного активного средства или комбинации активных средств было достигнуто и которое

поддерживается последующими дозами активного средства(средств) на уровне, который находится на уровне или выше минимального эффективного терапевтического содержания и ниже минимального токсического содержания в плазме для данного активного средства(средств).

- 5 Используемый в настоящем документе термин «единственный состав» относится к единственному носителю или наполнителю, составленному для доставки эффективных количеств обоих терапевтических средств пациенту. Единственный наполнитель предназначен для доставки эффективного количества каждого из средств вместе с любыми фармацевтически приемлемыми носителями или вспомогательными веществами.
- 10 Согласно некоторым вариантам осуществления наполнитель представляет собой таблетку, капсулу, пилюлю или пластырь.

Термин «единичная доза» используется в настоящем документе для обозначения одновременного введения обоих средств вместе в одной лекарственной форме подвергаемому лечению пациенту. Согласно некоторым вариантам осуществления

- 15 единичная доза представляет собой единственный состав. Согласно некоторым вариантам осуществления единичная доза включает в себя один или несколько наполнителей, так что каждый наполнитель включает в себя эффективное количество по меньшей мере одного из средств (соединение 1 или ингибитор CDK 4/6) вместе с фармацевтически приемлемыми носителями и вспомогательными веществами. Согласно
- 20 некоторым вариантам осуществления единичная доза представляет собой одну или несколько таблеток, капсул, пилюль или пластырей, вводимых пациенту одновременно. Когда средства вводятся «одновременно», они могут вводиться либо в виде единичной дозы, либо в виде отдельных доз, вводимых в непосредственной близости по времени; в неограничивающем примере оба средства могут вводиться раздельно в течение пяти
- 25 минут друг относительно друга.

Используемый в настоящем документе термин «диапазон доз» относится к верхнему и нижнему пределам приемлемого изменения количества указанного средства. Как правило, дозу средства в любом количестве в указанном диапазоне можно вводить подвергающимся лечению пациентам.

- 30 Термин «лечить» используется в настоящем документе для обозначения облегчения, уменьшения или ослабления по меньшей мере одного симптома заболевания у субъекта. Например, применительно к раку молочной железы термин «лечить» может означать остановку, отсрочку наступления (т.е. период до клинического проявления заболевания или симптома заболевания) и/или снижение риска развития или ухудшения симптома
- 35 заболевания. Термин «защищать» используется в настоящем документе для обозначения предотвращения задержки или лечения или и того и другого, в случае необходимости, развития или продолжения или обострения симптомов заболевания у субъекта.

- 40 Термин «субъект» или «пациент» предназначен для обозначения животных, которые способны характеризоваться наличием рака молочной железы или уже характеризуются его наличием. Примеры субъектов или пациентов включают в себя млекопитающих, например, людей, собак, коров, лошадей, свиней, овец, коз, кошек, мышей, кроликов, крыс и отличных от людей трансгенных животных. Согласно определенным вариантам осуществления субъект представляет собой человека, например, человека, страдающего, подверженного риску или потенциально способного характеризоваться наличием рака
- 45 молочной железы.

Термин «приблизительно» или «примерно», как правило, означает в пределах 20%, более предпочтительно в пределах 10% и наиболее предпочтительно еще в пределах 5% от заданного значения или диапазона. Альтернативно, особенно в биологических

системах, термин «приблизительно» означает приблизительно в логарифме (т.е. на порядок), предпочтительно в пределах двукратной величины от данного значения.

Использование терминов в единственном и множественном числе и аналогичных ссылок в контексте описания настоящего изобретения (особенно в контексте следующей 5 формулы изобретения) должно толковаться как охватывающее как единственное, так и множественное число, если только иначе не указано в настоящем документе или явно не противоречит контексту. Термины «содержащий», «имеющий» и «включающий в себя» следует толковать как открытые термины (т.е. означающие «включающий в себя, без ограничения»), если не указано иное. Перечисление диапазонов значений в 10 настоящем документе предназначено только для того, чтобы служить сокращенным способом ссылки на каждое отдельное значение, попадающее в диапазон, если не указано иное, и каждое отдельное значение включается в описание, как если бы оно было индивидуально указано в данном документе.

Иллюстративные клеточные пролиферативные нарушения, которые можно лечить 15 с использованием одного или нескольких раскрытых в настоящем документе соединений, включают в себя, без ограничения, рак молочной железы, предраковое состояние или предопухолевое состояние молочной железы, доброкачественные новообразования или поражения молочной железы и злокачественные новообразования или поражения молочной железы и метастатические поражения в тканях и органах тела, кроме молочной 20 железы. Клеточные пролиферативные нарушения молочной железы могут включать в себя гиперплазию, метаплазию и дисплазию молочной железы.

Подлежащий лечению рак молочной железы может возникнуть у мужчин или женщин. Подлежащий лечению рак молочной железы может возникнуть у женщин в пременопаузе или у женщин в постменопаузе. Подлежащий лечению рак молочной железы может 25 возникнуть у субъекта в возрасте 30 лет или старше или у субъекта моложе 30 лет. Подлежащий лечению рак молочной железы возникает у субъекта в возрасте 50 лет или старше или у субъекта моложе 50 лет. Подлежащий лечению рак молочной железы может возникнуть у субъекта в возрасте 70 лет или старше или у субъекта моложе 70 лет.

30 Раскрытое в настоящем документе соединение или его фармацевтически приемлемая соль могут быть использованы для лечения или профилактики клеточного пролиферативного нарушения молочной железы или для лечения или профилактики рака молочной железы у субъекта, характеризующегося повышенным риском развития рака молочной железы, по сравнению с популяцией в целом, или используется для 35 определения подходящих кандидатов для таких целей. Субъектом с повышенным риском развития рака молочной железы по сравнению с популяцией в целом является женщина с семейным анамнезом или личным анамнезом рака молочной железы. Субъектом с повышенным риском развития рака молочной железы по сравнению с популяцией в целом является женщина старше 30 лет, старше 40 лет, старше 50 лет, 40 старше 60 лет, старше 70 лет, старше 80 лет или старше 90 лет.

Используемый в настоящем документе термин «усиленный эффект» относится к действию двух средств, которые вводятся вместе, обеспечивающему больший или улучшенный результат, чем когда отдельные средства вводятся отдельно без совместного введения другого средства. Введение средств вместе может обеспечить 45 усиленный эффект, когда они вводятся одновременно или последовательно. Последовательное введение средств предусматривает введение, разделенное несколькими секундами, минутами, часами или днями. Совместное введение средств может обеспечить усиленный эффект, когда средства вводят либо в виде части единственного состава,

либо при введении в отдельных составах. Примеры средств, которые можно вводить вместе, включают в себя ингибиторы соединения 1 и CDK4/6. Дополнительные примеры средств, которые можно вводить вместе, включают в себя i) соединение 1 и рибоциклиб; ii) соединение 1 и палбоциклиб и iii) соединение 1 и абемациклиб.

- 5 Более высокий или улучшенный результат усиленного эффекта может предусматривать, например, одно или несколько из следующего: i) улучшенное качество опухолевого ответа, ii) улучшенную скорость опухолевого ответа и iii) опухолевый ответ, который больше, чем аддитивный ответ, который мог бы быть достигнут, если бы отдельные средства вводились отдельно. Примеры улучшенного качества
- 10 опухолевого ответа могут включать в себя полную регрессию (CR) вместо частичной регрессии (PR), стабильного заболевания (SD) или прогрессирующего заболевания (PD). Другой пример улучшения качества опухолевого ответа может предусматривать частичную регрессию (PR) вместо стабильного заболевания (SD) или прогрессирующего заболевания (PD). Другой пример улучшенного качества опухолевого ответа может
- 15 предусматривать стабильное заболевание (SD) вместо прогрессирующего заболевания (PD). Могут быть проведены контролируемые исследования, чтобы определить, приводило ли введение средств вместе к усиленному эффекту опухолевого ответа, больше, чем аддитивные соответствующие ответы, достигнутые, когда отдельные средства соответственно вводятся отдельно, например, у мышей, крыс, собак, обезьян
- 20 или других животных. Такие контролируемые исследования могут оценивать, например, результирующий объем опухоли или метастатический или другой статус. Аналогичным образом, контролируемые исследования могут быть использованы для определения усиленного эффекта, приводящего к более быстрому опухолевому ответу.

Способы лечения

- 25 В настоящем документе предусмотрена комбинированная терапия, применимая для лечения рака молочной железы. Как описано ниже, предусмотренные в настоящем документе комбинации, могут характеризоваться рядом преимуществ.

Одним из преимуществ раскрытой в настоящем документе комбинации является неожиданный усиленный эффект комбинации соединения 1 и ингибитора CDK 4/6 при

30 ингибирования опухоли и лечении рака молочной железы.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе предусмотрена одна фармацевтическая композиция, содержащая комбинацию соединения 1 и ингибитора CDK 4/6. Преимущество, представленное в настоящем документе, заключается в усилении эффекта, который приводит к лечению рака

35 молочной железы по сравнению с лечением однократной дозой любого лекарственного средства. Когда лекарственные средства предоставляются в виде единичной дозы или единственного состава, «суточное количество принимаемых таблеток» у пациента, страдающего раком молочной железы, не увеличивается.

Как указано выше, согласно одному аспекту в настоящем документе предложена комбинация лекарственных средств, применимая для лечения, профилактики, остановки, задержки начала и/или снижения риска развития или реверсии рака молочной железы у млекопитающего, предусматривающая введение указанному млекопитающему комбинированной терапии, содержащей эффективное количество соединения 1 и эффективное количество ингибитора CDK 4/6.

45 Согласно некоторым вариантам осуществления подлежащий лечению субъект (например, пациент) определяется как не отвечающий или устойчивый к одной или нескольким терапиям рака молочной железы, например, к соединению 1. Согласно другим вариантам осуществления подлежащий лечению индивидуум отвечает на терапию

соединением 1, но терапия улучшается с введением ингибитора CDK 4/6. Например, пациенту вводят соединение 1 (например, от 50 до 600 мг в день, от 200 до 400 мг в день или 300 мг в день в течение некоторого периода времени, например, более одного дня, более двух дней, более трех дней, более одной недели, 21 день, более одного месяца и т.д.). После этого времени пациенту можно вводить ингибитор CDK 4/6 в сочетании с соединением 1.

Количество ингибитора CDK 4/6 может варьировать в зависимости от используемого ингибитора CDK 4/6. Например, палбоциклиб можно вводить, например, в дозировке 75, 100 или 125 мг/день; рибоциклиб можно вводить, например, в дозировке 200, 400 или 600 мг/день. Как правило, дозу вводят перорально в виде одной капсулы в течение 21 дня подряд с последующим 7-дневным периодом без лечения.

Суточная дозировка может представлять собой часть циклической схемы, продолжительностью от 14 до 21 дня или дольше. Суточное дозированное количество может быть введено в виде одной дозировки или нескольких дозировок.

Специалист в настоящей области понимает, что эффективная доза активного лекарственного средства может быть ниже, чем фактическое введенное количество. Как таковые, в настоящем документе представлены дозы, необходимые для достижения терапевтической дозы.

Согласно различным вариантам осуществления в настоящем документе

предусмотрены способы лечения рака молочной железы путем введения эффективного количества соединения 1 и ингибитора CDK 4/6 индивидууму, характеризующемуся наличием рака молочной железы. Количество комбинации средств эффективно для лечения рака молочной железы. Согласно одному варианту осуществления комбинация средств оказывает усиленный эффект. Согласно одному варианту осуществления, даже если один или несколько средств, вводимых отдельно в определенной дозировке, могут быть эффективными, при введении в комбинации при одинаковой дозировке каждого средства лечение более эффективно. Например, согласно одному варианту осуществления комбинация соединения 1 и палбоциклиба является более эффективной, чем введение любого средства отдельно. Согласно другому варианту осуществления комбинация соединения 1 и рибоциклиба является более эффективной, чем введение любого средства отдельно.

Дозировки

Оптимальная доза комбинации средств для лечения рака молочной железы может быть определена эмпирически для каждого индивидуума с использованием известных способов и будет зависеть от множества факторов, включая в себя активность средств; возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол и диету человека; время и путь введения; и другие лекарственные средства, которые принимает индивидуум.

Оптимальные дозировки могут быть установлены с использованием рутинных испытаний и процедур, которые хорошо известны в настоящей области техники.

Для комбинированной терапии по настоящему изобретению суточная доза соединения 1 находится в диапазоне от 50 до 1000 мг. Согласно некоторым вариантам осуществления суточная доза соединения 1 составляет до 1000 мг. Согласно определенным вариантам осуществления суточная доза соединения 1 составляет до 500 мг. Согласно различным вариантам осуществления суточная доза соединения 1 составляет до 300 мг. Согласно определенным вариантам осуществления суточная доза соединения 1 составляет 50 мг. Согласно одному варианту осуществления суточная доза соединения 1 составляет 300 мг.

Для комбинированной терапии по настоящему изобретению суточная доза соединения

2 находится в диапазоне от 50 до 1000 мг. Согласно некоторым вариантам осуществления суточная доза соединения 2 составляет до 1000 мг. Согласно определенным вариантам осуществления суточная доза соединения 2 составляет до 500 мг. Согласно различным вариантам осуществления суточная доза соединения 2 составляет до 300 мг. Согласно определенным вариантам осуществления суточная доза соединения 1 составляет 50 мг. Согласно одному варианту осуществления суточная доза составляет 300 мг.

Для комбинированной терапии по настоящему изобретению суточная доза соединения 3 находится в диапазоне от 50 до 1000 мг. Согласно некоторым вариантам осуществления суточная доза соединения 3 составляет до 1000 мг. Согласно определенным вариантам осуществления суточная доза соединения 3 составляет до 500 мг. Согласно различным вариантам осуществления суточная доза соединения 3 составляет до 300 мг. Согласно определенным вариантам осуществления суточная доза соединения 3 составляет 50 мг. Согласно одному варианту осуществления суточная доза составляет 300 мг.

Время введения может быть выбрано таким, чтобы оба лекарственных средства вводили одновременно, по отдельности или последовательно, либо утром, либо ночью. Кроме того, одно лекарственное средство можно вводить утром, а другое ночью. Согласно определенным вариантам осуществления оба лекарственных средства могут вводиться в виде одной таблетки, капсулы, пилюли, пластиря или желе, один раз в день, утром или ночью.

Количество комбинации средств, которые могут быть объединены с материалами носителя для получения единичной дозированной формы, будет варьировать в зависимости от подвергаемого лечению индивидуума и конкретного способа введения. Согласно некоторым вариантам осуществления стандартные дозированные формы, содержащие комбинацию описанных в настоящем документе средств, будут содержать количества каждого средства комбинации, которые обычно вводят, когда средства вводят отдельно.

Фармацевтические составы и пути введения
В настоящем документе представлены фармацевтические составы, содержащие комбинацию средств для лечения рака молочной железы. Фармацевтические составы могут дополнительно содержать носитель или вспомогательное вещество, стабилизатор, ароматизатор и/или краситель.

Комбинация средств может быть введена с использованием различных путей введения, известных специалистам в настоящей области техники. Пути введения включают в себя пероральное введение. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтическую композицию, содержащую комбинацию средств, можно принимать перорально в форме жидкости, сиропа, таблетки, капсулы, порошка, обсыпки, жевательных таблеток или растворимого диска. Альтернативно, фармацевтические составы по настоящему изобретению можно вводить внутривенно или трансдермально. Специалистам в настоящей области техники известны дополнительные пути введения (смотрите, например, Remington's Pharmaceutical Sciences, Gennaro A.R., Ed., 20th Edition, Mack Publishing Co., Easton, Pa.).

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор соединения 1 и CDK 4/6 готовят в виде пасты, желе или супензии. Например, лекарственные средства растворяются, захватываются или супензируются в форме частиц лекарственного средства, микрокапсулированных частиц или частиц лекарства-полимера в желатиновом растворе или полутвердом веществе. Преимущество перорального желеобразного

состава состоит в том, что лекарственные средства легче вводить пациентам, которым трудно глотать таблетки, капсулы или пилюли. Согласно определенным вариантам осуществления оба средства тщательно перемешивают и сусpendируют в подходящей среде для образования пасты или геля. Дополнительные средства необязательно могут быть смешаны для придания аромата при пероральном введении. Арахисовое масло или альгинат, приправленные малиной и подсластителем, являются примерами многих подходящих средств, маскирующих вкус. Согласно различным вариантам осуществления паста или желе также могут быть приготовлены с подходящими связующими веществами или вспомогательными веществами, известными в настоящей области техники для местного применения.

Способы приготовления составов с замедленным высвобождением в форме таблеток, капсул или пилюль известны в настоящей области техники. Согласно некоторым вариантам осуществления состав с замедленным высвобождением получают путем покрытия активного ингредиента лекарственного средства полимером, предпочтительно нерастворимым в воде полимером. Например, нерастворимый в воде полимер, используемый в фармацевтической области в качестве покрывающего средства с замедленным высвобождением, кишечнорастворимого покрывающего средства или желудочнорастворимого покрывающего средства. Нерастворимый в воде полимер может включать в себя, например, этилцеллюзу, очищенный шеллак, белый шеллак, аминоал кил метакр штатный сополимер RS, гидроксипропилметилцеллюлозы фталат, гидроксипропилметилцеллюлозы ацетата сукцинат, карбоксиметилэтилцеллюлозу, фталат ацетата целлюлозы, сополимер L метакриловой кислоты и сополимер LD метакриловой кислоты, сополимер S метакриловой кислоты, сополимер E аминоалкилметакрилата или полив инилацетальный диэтил аминогидрат.

Тип, степень замещения и молекулярная масса нерастворимых в воде полимеров могут зависеть от растворимости активного ингредиента в воде или спирте, желаемого уровня замедленного высвобождения и т.п. Нерастворимые в воде полимеры можно использовать отдельно или в комбинации. Кроме того, могут быть включены гидрогенизированное масло, стеариновая кислота или цетанол в качестве вспомогательного средства для покрытия и триглицерид средней цепи, триацетин, триэтилцитрат или цетанол в качестве пластификатора.

Согласно некоторым вариантам осуществления состав с замедленным высвобождением представляет собой таблетку или гранулу матричного типа. Активный ингредиент может быть покрыт до 3 различных типов полимеров. Эти три различных типа полимеров могут включать в себя: 1) нерастворимый в воде полимер, такой как этилцеллюзоза; 2) pH-независимый гелеобразующий полимер, такой как гидроксипропилметилцеллюлоза; и 3) pH-зависимый гелеобразующий полимер, такой как альгинат натрия. Эти три различных типа полимеров можно использовать вместе для ослабления скорости высвобождения лекарственных средств.

Дозированные формы: свойства высвобождения

Составы с замедленным высвобождением могут достигать определенной степени устойчивого эффекта. Однако воздействие и/или биодоступность активного ингредиента может варьировать в зависимости от множества факторов, таких как, например, окно поглощения, носители или вспомогательные вещества, используемые в составе, способ доставки состава и/или время прохождения активного ингредиента через желудочно-кишечный тракт пациента.

Комбинированная терапия может содержать по меньшей мере одну часть с замедленным высвобождением для выполнения функции замедленного высвобождения

и одну часть с немедленным высвобождением для выполнения функции немедленного высвобождения. Согласно определенным вариантам осуществления, когда комбинированная терапия находится в одной лекарственной форме, она может быть в форме таблеток, образованных из смеси гранул с замедленным высвобождением, 5 составляющих часть с замедленным высвобождением, и гранул с немедленным высвобождением, составляющих часть с немедленным высвобождением, препарат капсулы, полученный путем наполнения капсулы гранулами с замедленным высвобождением и гранулами с немедленным высвобождением, или таблетками, покрытыми оболочками прессованием, в которых внешний слой, составляющий часть 10 с немедленным высвобождением, сформирован на внутреннем ядре, составляющем часть с замедленным высвобождением. Однако нет никаких ограничений для вышеуказанных вариантов осуществления.

Кроме того, нет особых ограничений в отношении состояния содержания каждого лекарственного средства в композиции или в части с немедленным высвобождением 15 или в части с замедленным высвобождением; соединение 1 может быть равномерно диспергировано в композиции, части с немедленным высвобождением или части с замедленным высвобождением или может содержаться только в одной части композиции, части с немедленным высвобождением или части с замедленным высвобождением, или может содержаться так, что существует градиент концентрации.

20 Часть с замедленным высвобождением в композиции согласно настоящему изобретению может содержать по меньшей мере одно не зависящее от pH полимерное вещество или зависящее от pH полимерное вещество для контроля высвобождения лекарственного средства.

Используемое в настоящем документе не зависящее от pH полимерное вещество 25 может содержать полимерное вещество, состояние заряда которого практически не изменяется в условиях pH, обычно встречающихся в желудочно-кишечном тракте, в частности от pH 1 до pH 8. Это означает, например, полимерное вещество, которое не содержит функциональные группы, состояние заряда которых изменяется в зависимости от pH, такие как основные функциональные группы, такие как аминогруппы, или 30 кислотные функциональные группы, такие как группы карбоновых кислот. Следует отметить, что не зависящее от pH полимерное вещество может быть включено для придания композиции в соответствии с настоящим изобретением функции замедленного высвобождения, но также может быть включено для другой цели. Кроме того, не зависящее от pH полимерное вещество, используемое в настоящем изобретении, может 35 быть нерастворимым в воде или может набухать в воде или растворяться в воде с образованием геля.

Примеры нерастворимых в воде не зависящих от pH полимерных веществ включают в себя, без ограничения, простые эфиры целлюлозы, сложные эфиры целлюлозы и сополимеры метакриловой кислоты и акриловой кислоты (торговое наименование 40 Eudragit, производства Rohm GmbH & Co. KG, Дармштадт, Германия). Примеры включают в себя, без ограничения, алкиловые эфиры целлюлозы, такие как этилцеллюлоза (торговое наименование Ethocel, производства Dow Chemical Company, США), этилметилцеллюлоза, этилпропилцеллюлоза или изопропилцеллюлоза и бутил целлюлоза, аралкиловые эфиры целлюлозы, такие как бензилцеллюлоза, 45 цианоалкилцеллюлоза, простые эфиры, такие как цианоэтилцеллюлоза, сложные эфиры целлюлозы и органических кислот, такие как ацетатбутират целлюлозы, ацетат целлюлозы, пропионат целлюлозы или бутират целлюлозы, и пропионат ацетата целлюлозы, этилакрилатметилметакрилатные сополимеры (торговое наименование

Eudragit NE, производства Rohm GmbH & Co. KG, Дармштадт, Германия) и аминоалкилметакрилатный сополимер RS (торговые наименования Eudragit RL, Eudragit RS). Не существует особых ограничений в отношении среднего диаметра частиц нерастворимого в воде полимера, используемого в настоящем изобретении, но как правило, чем ниже этот средний диаметр частиц, тем лучше рабочие характеристики, причем средний диаметр частиц предпочтительно составляет от 0,1 до 100 мкм, более предпочтительно от 1 до 50 мкм, особенно предпочтительно от 3 до 15 мкм, наиболее предпочтительно от 5 до 15 мкм. Кроме того, примеры водорастворимых или набухающих в воде не зависящих от pH полимерных веществ включают в себя, без ограничения, полиэтиленоксид (торговое наименование Polyox, производства Dow Chemical Company, молекулярная масса от 100000 до 7000000), низкозамещенная гидроксипропилцеллюлоза (торговое наименование L-HPC, производства Shin-Etsu Chemical, Япония), гидроксипропилцеллюлоза (торговое наименование HPC, производства Nippon Soda, Co., Ltd, Япония), гидроксипропилметилцеллюлоза (торговые марки Metolose 60SH, 65SH, 90SH, производства Shin-Etsu Chemical, Япония) и метилцеллюлоза (торговое наименование Metolose SM, производства Shin-Etsu Chemical, Япония).

Согласно некоторым вариантам осуществления в композиции может содержаться одно не зависящее от pH полимерное вещество или может содержаться множество не зависящих от pH полимерных веществ. Не зависящее от pH полимерное вещество, если оно используется в описанных в настоящем документе вариантах осуществления, может представлять собой нерастворимое в воде полимерное вещество, более предпочтительно этилцеллюлозу, этилакрилатметилметакрилатный сополимер (торговое наименование Eudragit NE) или аминоалкилметакрилатный сополимер RS (торговое наименование Eudragit RL, Eudragit RS). Особенно предпочтительным является по меньшей мере один из этилцеллюлозы и аминоалкилметакрилатного сополимера RS. Наиболее предпочтительной является этилцеллюлоза. Нет конкретных ограничений в количестве не зависящего от pH полимерного вещества, содержащегося в композиции; это количество может быть скорректировано в зависимости от цели, такой как контроль замедленного высвобождения лекарственного средства.

Зависящее от pH полимерное вещество, которое можно использовать в описанных в настоящем документе вариантах осуществления, может представлять собой полимерное вещество, состояние заряда которого изменяется в условиях pH, как правило, встречающихся в желудочно-кишечном тракте, в частности от pH 1 до pH 8. Это означает, например, полимерное вещество, содержащее функциональные группы, состояние заряда которых изменяется в зависимости от pH, такие как основные функциональные группы, такие как аминогруппы, или кислотные функциональные группы, такие как карбоксильные группы. Зависящие от pH функциональные группы зависящего от pH полимерного вещества предпочтительно представляют собой кислотные функциональные группы, причем зависящее от pH полимерное вещество наиболее предпочтительно содержит карбоксильные группы.

Используемое в настоящем изобретении зависящее от pH полимерное вещество может быть нерастворимым в воде или может набухать в воде или растворяться в воде с образованием геля. Примеры используемых в настоящем изобретении зависящих от pH полимерных веществ включают в себя, без ограничения, энтеросолюбильные полимерные вещества. Примеры энтеросолюбильных полимерных веществ включают в себя, без ограничения, сополимеры метакриловой кислоты и метилметакрилата (Eudragit L100, Eudragit S100, производства Rohm GmbH & Co. KG, Дармштадт, Германия),

сополимеры метакриловой кислоты и этилакрилата (Eudragit L100- 55, Eudragit L30D- 55, производства Rohm GmbH & Co. KG, Дармштадт, Германия), гидроксипропилметилцеллюлозы фталат (HP-55, HP-50, производства Shin-Etsu Chemical, Япония), гидроксипропилметилцеллюлозы ацетата сукцинат (AQOAT, производства 5 Shin-Etsu Chemical, Япония), карбоксиметилэтилцеллюлозу (CMEC, производства Freund Corporation, Япония) и целлюлозы ацетата фталат.

Примеры зависящих от pH полимерных веществ, которые набухают в воде или растворяются в воде с образованием геля, включают в себя, без ограничения, альгиновую кислоту, пектин, карбоксивиниловый полимер и карбоксиметилцеллюлозу.

- 10 В настоящем изобретении в композиции может содержаться одно зависящее от pH полимерное вещество или может содержаться множество зависящих от pH полимерных веществ. Используемое в настоящем изобретении зависящее от pH полимерное вещество предпочтительно представляет собой энтеросолюбильное полимерное вещество, более предпочтительно, сополимер метакриловой кислоты и этилакрилата, сополимер 15 метакриловой кислоты и метилметакрилата, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы или гидроксипропилметилцеллюлозы ацетата сукцинат, особенно предпочтительно сополимер метакриловой кислоты и этилакрилата.

При использовании зависящего от pH полимерного вещества в процессе производства композиции в соответствии с настоящим изобретением коммерчески доступный продукт 20 порошкового или гранулированного типа или суспензионного типа, в котором зависящее от pH полимерное вещество диспергировано в растворителе заранее, может быть использован как есть, или такой коммерчески доступный продукт может быть использован диспергированным в воде или органическом растворителе. Чем ниже диаметр частиц зависящего от pH полимерного вещества, тем лучше рабочие 25 характеристики, причем зависящее от pH полимерное вещество предпочтительно относится к порошковому типу. В случае сополимера метакриловой кислоты и этилакрилата примером является Eudragit L100-55. Нет особых ограничений среднего диаметра частиц используемого в настоящем изобретении зависящего от pH полимерного вещества, но средний диаметр частиц предпочтительно составляет от 0,05 30 до 100 мкм, более предпочтительно от 0,05 до 70 мкм, наиболее предпочтительно от 0,05 до 50 мкм. Более того, нет особых ограничений количества зависящего от pH полимерного вещества, например, в случае энтеросолюбильного полимерного вещества количество, как правило, составляет от 0,1 до 90 мас. ч., предпочтительно от 1 до 70 мас. ч. более предпочтительно от 5 до 60 мас. ч., особенно предпочтительно от 10 до 35 50 мас. ч. в расчете на 100 мас. ч. композиции.

Комбинированная терапия в соответствии с описанными в настоящем документе вариантами осуществления может дополнительно содержать любую из различных добавок, таких как любой из различных фармакологически приемлемых носителей, таких как разбавители, смазывающие вещества, связующие вещества и разрыхлители, 40 а также консерванты, красители, подсластители, пластификаторы, средства для пленочного покрытия и т.д. по мере необходимости. Примеры разбавителей включают в себя, без ограничения, лактозу, маннит, двухосновный фосфат кальция, крахмал, прежелатинизированный крахмал, кристаллическую целлюлозу, легкий кремниевый ангидрид, синтетический силикат алюминия, метасиликат алюмината магния или т.п. 45 Примеры смазывающих веществ включают в себя, без ограничения, стеарат магния, стеарат кальция, тальк, стеарилфумарат натрия или т.п. Примеры связующих веществ включают в себя, без ограничения, гидроксипропилцеллюлозу, метилцеллюлозу, натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы, гидроксипропилметилцеллюлозу,

поливинилпирролидон или т.п. Примеры разрыхлителей включают в себя, без ограничения, карбоксиметилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу кальция, кроскармеллозу натрия, карбоксиметилкрахмал натрия, низкозамещенную гидроксипропилцеллюлозу или т.п. Примеры консервантов включают в себя, без ограничения, сложные эфиры параоксибензойной кислоты, хлорбутанол, бензиловый спирт, фенетиловый спирт, дегидроуксусную кислоту, сорбиновую кислоту или т.п. Предпочтительные примеры красителей включают в себя, без ограничения, нерастворимые в воде красочные пигменты, природные пигменты (например, бета-каротин, хлорофилл, красный оксид железа), желтый оксид железа, красный оксид железа, черный оксид железа или т.п. Предпочтительные примеры подсластителей включают в себя, без ограничения, сахарин натрия, дикалия глицирризат, аспартам, стевию или т.п. Примеры пластификаторов включают в себя, без ограничения, сложные эфиры глицерина и жирных кислот, триэтилцитрат, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль или т.п. Примеры средств для пленочного покрытия включают в себя, без ограничения, гидроксипропилметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу или т.п.

Способы изготовления

Для изготовления описанных в настоящем документе вариантов осуществления может быть использован один обычный способ или комбинация традиционных способов. Например, при изготовлении содержащих лекарственное средство гранул в виде части с замедленным высвобождением или части с немедленным высвобождением, гранулирование представляет собой основную операцию, но это может сочетаться с другими операциями, такими как смешивание, сушка, просеивание и классификация. В качестве способа грануляции, например, различают способ влажной грануляции, при котором связующее вещество и растворитель добавляют к порошку и проводят грануляцию, способ сухой грануляции, при котором порошок прессуют и проводят грануляцию, способ расплавленной грануляции, при котором добавляют связующее вещество, которое плавится при нагревании, и проводят нагревание и грануляцию или т.п.

Кроме того, в соответствии со способом грануляции, можно использовать такой

рабочий способ, как способ грануляции с перемешиванием с использованием планетарного миксера, шнекового смесителя или т.п., способ грануляции с высокоскоростным перемешиванием с использованием миксера Henschel, миксера Super или т.п., способ грануляции экструдированием с использованием цилиндрического гранулятора, роторного гранулятора, шнекового экструдирующего гранулятора, гранулятора типа пресс-гранулятор и т.п., способ влажной грануляции с высоким сдвиговым усилием, способ грануляции в псевдоожиженном слое, способ грануляции под давлением, способ гранулирующего дробления или способ распылительной грануляции. После грануляции можно проводить сушку с использованием сушилки, псевдоожиженного слоя или т.п., крекинга и просеивания для получения гранул или мелких гранул для использования. Кроме того, растворитель для грануляции может быть использован при приготовлении композиции по настоящему изобретению. Не существует особых ограничений в отношении такого гранулирующего растворителя, которым может быть вода или любой из различных органических растворителей, например, вода, низший спирт, такой как метанол или этанол, кетон, такой как ацетон или метилэтилкетон, метиленхлорид или их смесь.

Для гранул с замедленным высвобождением, содержащихся в вариантах осуществления, по меньшей мере одно лекарственное средство и по меньшей мере одно, выбранное из не зависящих от pH полимерных веществ и зависящих от pH полимерных

веществ, смешивают вместе, разбавитель и связующее вещество добавляют по мере необходимости, и проводят грануляцию для получения сыпучих веществ. Полученное гранулированное вещество сушат с использованием лотковой сушилки, сушилки с псевдоожженным слоем или т.п., и просеивание проводят с использованием мельницы

5 или генератора, в результате чего могут быть получены гранулы с замедленным высвобождением. Альтернативно, в качестве способа изготовления гранул с замедленным высвобождением в настоящем изобретении можно добавить по меньшей мере одно лекарственное средство, по меньшей мере одно, выбранное из не зависящих от рН полимерных веществ и зависящих от рН полимерных веществ, и, при

10 необходимости, разбавитель и связующее вещество с использованием пресса для сушки, такого как роликовый пресс или таблеточная машина, и выполняют формование прессованием во время перемешивания, а затем проводят гранулирование путем крекинга до подходящего размера. Гранулированное вещество, полученное с использованием такого гранулятора, может быть использовано как есть в виде гранул

15 или мелких гранул в соответствии с настоящим изобретением, или может быть дополнительно подвергнуто крекингу с использованием силовой мельницы, роликового пресса, роторной мельницы и т.п., и просеяно для получения гранул с замедленным высвобождением. Следует обратить внимание, что гранулы с немедленным высвобождением могут быть изготовлены так же, как и гранулы с замедленным

20 высвобождением.

Формованный под давлением продукт может быть изготовлен в виде содержащей лекарственное средство части с замедленным высвобождением или части с немедленным высвобождением, или в виде описанной в настоящем документе композиции с использованием одного общепринятого способа или комбинации общепринятых

25 способов. Например, используют по меньшей мере одно лекарственное средство, по меньшей мере одно, выбранное из не зависящих от рН полимерных веществ и зависящих от рН полимерных веществ, такой разбавитель, как маннит или лактоза, такое связующее вещество, как поливинилпирролидон или кристаллическая целлюлоза, такой разрыхлитель, как кармеллоза натрия или кросповидон, и такое смазывающее вещество,

30 как стеарат магния или тальк, и проводят таблетирование с использованием обычного способа, в результате чего может быть получен прессованный продукт. В этом случае таблетирование является основной операцией в способе изготовления формованного под давлением изделия, но это может сочетаться с другими операциями, такими как смешивание, сушка, формирование сахарного покрытия и нанесение покрытия.

35 Примеры способа таблетирования включают в себя, без ограничения, прямое прессование в форме, при котором по меньшей мере одно лекарственное средство и фармакологически приемлемые добавки смешиваются вместе, а затем смесь прессуется непосредственно в таблетки с использованием машины для таблетирования, и прессование сухих гранул или прессование влажных гранул, при котором гранулы с замедленным высвобождением или гранулы с немедленным высвобождением согласно

40 настоящему изобретению подвергаются формированию под давлением после добавления смазки или разрыхлителя, если необходимо. Не существует особых ограничений в отношении машины для таблетирования, используемой при прессовании; например, можно использовать одноштамповую таблеточную машину, роторную таблеточную машину или таблеточную машину с прессованным покрытием.

Содержащие лекарственное средство гранулы с замедленным высвобождением или гранулы с немедленным высвобождением, или прессованный под давлением продукт в соответствии с приведенными в настоящем документе вариантами осуществления

могут быть использованы в виде композиции в виде гранул или таблетки, но также могут быть подвергнуты дальнейшей обработке для изготовления композиции.

Например, на формованный под давлением продукт или гранулы можно нанести пленочное покрытие с использованием материала основы пленки, такого как

- 5 этилцеллюлоза, казеин, метил целлюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, сополимер метакриловой кислоты L, фталат ацетата целлюлозы, шеллак или т.п., или нанести сахарное покрытие с использованием жидкости для сахарного покрытия, содержащей сахарозу, сахарный спирт, порошок гуммиарабику, тальк или т.п., с получением таблеток с пленочным покрытием или таблеток с сахарным покрытием. Одним растворителем
- 10 в этой технологии нанесения покрытия может быть очищенная вода, но также можно использовать органический растворитель, такой как спирт, кетон, простой эфир или хлорированный углеводород, или их смесь. Например, этанол, ацетон, метиленхлорид или т.п. можно использовать в качестве органического растворителя. Кроме того, в качестве устройства для нанесения покрытия можно использовать устройство, как
- 15 правило, используемое в технологиях нанесения покрытия для изготовления лекарственных средств, с примерами, включающими в себя устройство для нанесения покрытия распылением, в котором нанесение покрытия осуществляют путем распыления жидкости для нанесения покрытия или т.п., и роторный гранулятор с псевдоожженным слоем для наслоения.

- 20 В случае изготовления капсулальных препаратов капсулальные препараты могут быть изготовлены путем заполнения гранул с замедленным высвобождением или гранул с немедленным высвобождением, как указано выше, или мини-таблеток в твердые желатиновые капсулы или капсулы НРМС с использованием автоматической машины для наполнения капсул. Альтернативно, в случае препаратов для введения в пробирке
- 25 или сухого сиропа, который используется в смеси с водой или т.п., когда взяты, гранулы замедленного высвобождения или гранулы немедленного высвобождения, как указано выше, могут быть смешаны с загустителем или диспергирующим средством так, чтобы диспергировать эти гранулы, смесь затем превращают в гранулы или таблетки. Кроме того, жидкость или желе могут быть приготовлены с использованием воды и веществ,
- 30 выбранных из диспергирующих средств, эмульгаторов, загустителей, консервантов, регуляторов pH, подсластителей, ароматизаторов, отдушек и так далее. Тем не менее в отношении других способов изготовления нет никаких ограничений для вышеизложенного.

- 35 Для того чтобы описанные в настоящем документе варианты осуществления могли быть более понятны, изложены следующие примеры. Следует понимать, что эти примеры предназначены только для иллюстративных целей и не должны рассматриваться как ограничивающие.

ПРИМЕРЫ

- В совокупности приведенные ниже данные демонстрируют комбинации с
- 40 палбоциклибом, ингибитором CDK4/6, который может значительно усиливать антипролиферативные и противоопухолевые эффекты соединений 1, 2 и 3 в клеточных линиях, несущих ER α ^{WT} и/или ER α ^{Y537S}, и для соединения 1 в модели ксенотрансплантата, полученного от пациента, у которого наблюдается рак молочной
- 45 железы ER α ^{WT/Y537S}.

МАТЕРИАЛЫ И СПОСОБЫ

Исследуемые клеточные линии

Клетки MCF7 BUS (Coser, et al., (2003) PNAS 100(24): 13994-13999) поддерживали в модифицированной по Дульбекко среде Игла, дополненной 10% FBS, 4 мМ L-

глутамином и 1-кратными незаменимыми аминокислотами. Клетки Lenti-X 293T (Clontech, кат. номер 632180), как правило, культивировали в модифицированной по Дульбекко среде Игла, дополненной 10% FBS. Линии MCF7, сконструированные для сверхэкспрессии (MCF7.6) или ER α ^{Y537S} (MCF7.7), получали из клеток MCF7 BUS в H3 Biomedicine, Inc. Клеточную линию ST941 получали из модели (ST941) полученного от пациента ксенотрансплантата рака молочной железы (PDX), положительного в отношении эндогенной мутации горячей точки Y537S в ER α . Клетки HEK293T, используемые для производства вируса, получали от Clontech. Во всех клеточных линиях подтверждали отсутствие загрязнения микобактериями, а их идентичность подтверждали анализом коротких tandemных повторов с 9 маркерами.

Поддержание клеточной линии и условия исследования

Условия среды для роста сконструированных линий MCF7 включали в себя модифицированную по Дульбекко среду Игла (DMEM) (ATCC® 30-2002™) с добавлением 10% в объемном отношении фетальной бычьей сыворотки (ATCC® 30-2021™), 2,0 мМ L-глутамина (ATCC® 30-2214™), 1,0% незаменимых аминокислот (ThermoFisher #11140050) и 5 мкг/мл бластицидина (ThermoFisher #A1113903). Условия среды для роста клеток ST941 включали в себя модифицированную по Дульбекко среду Игла (DMEM) (ATCC® 30-2002™) с добавлением 20% в объемном отношении фетальной бычьей сыворотки (ATCC® 30-2021™). Все клетки поддерживали до и во время экспериментов при температуре 37°C, 5% CO₂ и при относительной влажности 95%. Клетки пассировали от 2 до 3 раз в неделю, и число пассажей ограничивалось от 6 до 20. Во время экспериментов *in vitro* клетки высевали с соответствующей плотностью, чтобы обеспечить логарифмический рост в течение и по меньшей мере 24 часов после продолжительности воздействия экспериментального целевого соединения.

Сайт-направленный мутагенез и конструирование клеточных линий

Набор QuikChange II XL для сайт-направленного мутагенеза (Agilent Technologies, кат. номер 200523) использовали для получения мутации Y537S в экзоне 8 ER α . кДНК ESR1 дикого типа (GeneCopoeia Inc., кат. номер GC-A0322, номер доступа NM 000125) использовали в качестве матрицы со следующими праймерами мутагенеза (где подчеркнутые нуклеотиды представляют собой сайт-мутации):

Y537S: F-AAG AAC GTG
GTG CCC CTC TCT GAC CTG CTG CTG GAG ATG (SEQ ID NO: 1), R-CAT CTC CAG CAG
CAG GTC AGA GAG GGG CAC CAC GTT CTT (SEQ ID NO: 2).

кДНК ESR1 дикого типа и мутантного клонировали в лентивирусный вектор обозначения pLenti6.3/V5-Dest (Invitrogen, кат. номер V533-06). Для получения лентивирусных частиц ДНК (дикого типа и мутантного ESR1) совместно трансфицировали упаковочными плазмидами в клетки HEK293T с использованием липофектамина 2000. Через 48 ч после трансфекции вирусодержащие среды фильтровали и добавляли к клеткам MCF7 в присутствии 8 мкМ полибреда в течение ночи. На следующий день клетки отбирали с 6 мкМ бластицидина на 2 недели для стабильной экспрессии.

Приготовление соединения и представление в клетки

Эти подготовительные способы относятся к примерам 1-3 ниже. Соединения для анализа готовили в виде исходных растворов в 90% диметилсульфоксида (DMSO), оценивали на чистоту с помощью ЖХ/МС и серийно разводили в DMSO с использованием устройства для манипуляций с жидкостями низкого объема (VIAFLO ASSIST и VIAFLO II, электронная 16-канальная пипетка, 0,5-12,5 мкл) в 11-точечном

полулогарифмическом серийном разведении для создания исходного эффекта основной дозы (MDR), используемого для всех исследованиях.

Перенос соединений с исходного планшета MDR на клеточные планшеты осуществляли непосредственно с помощью низкоэнергетического акустического переноса (ATS100, EDC Biosystems) с использованием пользовательских специфических для комбинации карт переноса (Transfer Track, BioSero). После переноса соединений на планшет для анализа испытываемый клетками диапазон доза-эффект, как правило, составлял 2,5 мКМ - 25 пМ (5 log), и конечная концентрация DMSO в анализе составляла 0,1% равномерно. Каждый аналитический планшет содержал повторяющиеся серии разведений каждого соединения в виде отдельного средства, дубликаты 11×11 комбинированных матриц, отрицательные контроли наполнитель/DMSO, летальные положительные контроли (0,5 мКМ бортезомиб + 0,5 мКМ стауроспорин) и статическое контрольное средство циклогексимид (3 мКМ).

Измерение антитрополиферативной активности обработанных клеток

Анализы пролиферации и жизнеспособности клеток проводили через 144 часа после обработки с использованием люминесцентного реагента для анализа жизнеспособности клеток CellTiter-Glo® (Promega) в соответствии с инструкциями производителя (люминесцентный анализ жизнеспособности клеток CellTiter-Glo®, Технический бюллетень инструкций по использованию продукта(ов) G7570, G7571, G7572, G7573 Literature # TB288, Revised 3/15), а затем измеряя люминесцентный сигнал на микротитровальном планшетном ридере (Envision, PE).

Пролиферацию клеток оценивали с использованием сигнала времени ноль (T0) в качестве положительного контроля и лунок с наполнителем внутри планшета (DMSO) в качестве отрицательного контроля. Данные преобразовывали в процент ингибирования и они попадали в диапазон от 0% до 100% роста, где 0% соответствует сигналу при T0, а 100% соответствует неингибированному или максимальному росту. Рост клеток на уровне или приблизительно 0% считается статическим ответом.

Жизнеспособность клеток оценивали с использованием данных ответа для внутрипланшетных летальных контрольных соединений (0,5 мКМ бортезомиб/0,5 мКМ стауроспорин) и сигнала ТО в качестве отрицательного контроля. Данные преобразовывали в процент ингибирования и они находятся в диапазоне от -100% до 0%. Рост клеток на уровне или приблизительно -100% считается летальным ответом.

Определение синергии соединения *in vitro*

Соединения 1, 2 и 3 и ингибитор CDK4/6 палбоциклиб исследовали в качестве отдельных средств и в комбинациях на моделях линии клеток рака молочной железы MCF7.6, MCF7.7 и ST941. Данные об относительном проценте ингибирования рассчитывали с помощью собственного программного обеспечения для анализа данных (ECABIA, H3 Biomedicine), как описано, и затем преобразовывали в формат программного обеспечения Chalice (Horizon Discovery), совместимый с дальнейшим анализом (т.е. -100%, 0% и 100% преобразовывали в 200% (летальный), 100% (статический) и 0% (без эффекта), соответственно.)

Комбинированные эффекты затем оценивали с использованием программного обеспечения Chalice, сравнивая комбинированные ответы с их соответствующими эффектами с одним средством, используя модель аддитивности Леве (Lehar J et al 2009 и Zimmermann GR et al 2006). Диапазоны концентраций лекарственных средств, в которых возникали синергетические эффекты, можно визуализировать в Chalice, сравнивая диаграмму матрицы полной дозы с диаграммой модели аддитивности Леве и непосредственно наблюдая за диаграммой избыточного ответа. Количественная оценка

может быть сделана в рамках исследования или в рамках привязанных исследований, выполненных аналогичным образом, по площади и интенсивности комбинированного ответа, который обеспечивается оценкой синергии Chalice. Перекрестные эксперименты и исследования с другими комбинациями только добавок служили базовым контролем.

5 Создание ксенотрансплантата, дозирование и измерение противоопухолевой активности

Для создания ксенотрансплантатов, полученных от пациентов (PDX), характеризующихся наличием рака молочной железы $ER\alpha^{WT/Y537S}$, ткани солидной опухоли из модели ксенотрансплантата ST941 (ST941), несущие $ER\alpha^{WT/Y537S}$, разрезали на кусочки по 70 мг, смешивали с Matrigel (Corning, 354234) и подкожно имплантировали в правый бок беспимусных самок голых (Crl:NU(NCr)-Foxn1nu) мышей, снабженных питьевой водой, содержащей эстрадиол (Sigma-Aldrich, E1024-25G). Когда объемы опухоли (TV) достигали 125-250 mm^3 , 72 животных отбирали на основе TV и 15 рандомизировали в девять групп лечения по 8 животных в группе. Начиная с трех дней до лечения и до конца исследования, экзогенный эстрадиол больше не поставлялся в питьевую воду. Per os (PO) лечение соединением 1 (3 и 10 мг/кг) и палбоциклином (25 и 75 мг/кг) или наполнителем вводили один раз в день (QD). Объем введения PO (0,1 мл/10 г массы тела) рассчитывали по массе тела (BW) до введения соединения. Измерение 20 массы тела и объема опухоли проводили дважды в неделю.

TV в mm^3 рассчитывали по следующей формуле:

$$TV = \text{длина} \times \text{ширина}^2 \times 0,5$$

длина: наибольший диаметр опухоли (мм)

ширина: диаметр, перпендикулярный длине (мм)

25 % ингибирования роста опухоли (TGI) рассчитывали по следующей формуле:

$$\% \text{ ингибирования роста опухоли (TGI)} =$$

$$\frac{\text{Средний контрольный TV (день X)} - \text{TV после лечения (день X)}}{\text{Средний контрольный TV (день X)}} \times 100,$$

где день X - любой день измерения.

Противоопухолевые эффекты лечения, стабильного (SD) и прогрессирующего (PD) заболевания определяли критериями ответа модели ксенотрансплантата (смотрите ниже). Мышей с потерей массы тела > 20% по сравнению с массой тела в день 0 или с 35 массой опухоли > 10% массы тела животного подвергали эвтаназии для предотвращения любой боли и страданий животного. Все исследования проводили в соответствии с руководящими принципами, изложенными в START IACUC и определенными в программе START по уходу за животными и их использованию (протокол 09-001).

40 Статистический анализ

Данные выражены как среднее \pm SEM для TV и BW. Различия в объеме опухоли на 38-й день между группами, получавшими наполнитель и соединение 1, или обработанными палбоциклином, анализировали с помощью двухфакторного дисперсионного анализа с последующим тестом Тьюки. Изменения относительной 45 массы тела анализировали с помощью двухфакторного дисперсионного анализа с последующим тестом Тьюки. Статистический анализ проводили с использованием GraphPad Prism версии 7.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA).

Критерий ответа модели ксенотрансплантата

Прогрессирующее заболевание (PD): 3 последовательных измерения > 120% от

начального объема или 3 последовательных увеличивающихся измерения от наилучшего ответа, стабильное заболевание (SD): 3 последовательных измерения $> 50\%$ и $< 120\%$ от начального объема.

Составление соединения 1 и палбоциклиба для исследования ксенотрансплантата *in*

vivo

В примерах 4 ксенотрансплантата *in vivo*, о которых сообщается ниже, соединение 1 и палбоциклиб составляли следующим образом. Этот тип состава является иллюстративным и не требуется согласно конкретным вариантам осуществления настоящего изобретения. В этих примерах палбоциклиб представляли в качестве свободного основания.

Соединение 1 составляли в 2-гидроксипропил- β -циклодекстрине (HP-CD) с концентрацией 10% в декстрозе с концентрацией 5%, встряхивали и обрабатывали ультразвуком до прозрачности.

Палбоциклиб составляли в лактате натрия с концентрацией 50 мМ при pH 4,0. В

этом составе соединение было стабильным в течение 7 дней.

Пример 1 - Соединение 1 и палбоциклиб

В примерах 1-4 соединение 1 присутствовало в виде соли HCl.

На фиг. 1, 2 и 3 показано, что соединение 1 и палбоциклиб синергически ингибируют рост моделей клеток рака молочной железы *in vitro*. Клетки MCF7.6 обрабатывали в течение 144 часов различными дозами соединения 1 и палбоциклиба и они показаны на фиг. 1. Клетки MCF7.7 обрабатывали в течение 144 часов различными дозами соединения 1 и палбоциклиба и они показаны на фиг. 2. Клетки ST941 обрабатывали в течение 144 часов различными дозами соединения 1 и палбоциклиба и они показаны на фиг. 3. Ингибирование жизнеспособности клеток измеряли с использованием CellTiter-Glo, а программное обеспечение Chalice использовали для расчета избыточного ингибирования по сравнению с аддитивностью Леве для каждой комбинации доз соединения 1 и палбоциклиба. Что касается отдельных средств, то самые высокие дозы 1,0 мкМ соединения 1 и 2,5 мкМ палбоциклиба не полностью приводили к остановке роста клеток, но для всех исследованных моделей клеток комбинация соединения 1 в дозе 1,0 мкМ и палбоциклиба в дозе 2,5 мкМ приводила к полной остановке роста клеток (т.е. 100% эффект). Кроме того, в диапазоне более низких доз соединение 1 и палбоциклиб при их объединении уменьшали пролиферацию клеток в большей степени по сравнению с соответствующими дозами одного средства. Избыточное ингибирование по сравнению с аддитивностью рассчитывали с использованием модели аддитивности Леве, и синергетические значения наблюдали, начиная с 0,010 мкМ соединения 1 и 0,025 мкМ палбоциклиба.

Пример 2 - Соединение 2 и палбоциклиб

На фиг. 4, 5 и 6 показано, что соединение 2 и палбоциклиб синергически ингибируют рост моделей клеток рака молочной железы *in vitro*. Клетки MCF7.6 обрабатывали в течение 144 часов различными дозами соединения 2 и палбоциклиба и они показаны на фиг. 4. Клетки MCF7.7 обрабатывали в течение 144 часов различными дозами соединения 2 и палбоциклиба и они показаны на фиг. 5. Клетки ST941 обрабатывали в течение 144 часов различными дозами соединения 2 и палбоциклиба и они показаны на фиг. 6. Ингибирование жизнеспособности клеток измеряли с использованием CellTiter-Glo, а программное обеспечение Chalice использовали для расчета избыточного ингибирования по сравнению с аддитивностью Леве для каждой комбинации доз соединения 2 и палбоциклиба. Что касается отдельных средств, то самые высокие дозы 1,0 мкМ соединения 2 и 2,5 мкМ палбоциклиба не полностью приводили к остановке

роста клеток, но для всех исследованных клеточных моделей комбинация соединения 2 в дозе 1,0 мкМ и палбоциклиба в дозе 2,5 мкМ приводила к полной остановке роста клеток (т.е. 100% эффект). Кроме того, в диапазоне более низких доз соединения 2 и палбоциклиба при объединении снижается пролиферация клеток в большей степени по сравнению с соответствующими дозами одного средства. Избыточное ингибиование по сравнению с аддитивностью рассчитывали с использованием модели аддитивности Леве, и синергетические значения наблюдали, начиная с 0,010 мкМ соединения 2 и 0,025 мкМ палбоциклиба.

5 Пример 3 - Соединение 3 и палбоциклиб

10 На фиг. 7 показано, что соединение 3 и палбоциклиб синергически ингибируют рост модели клеток рака молочной железы MCF7.7 *in vitro*. Клетки MCF7.7 обрабатывали в течение 144 часов различными дозами соединения 3 и палбоциклиба. Ингибиование жизнеспособности клеток измеряли с использованием CellTiter-Glo, а программное обеспечение Chalice использовалось для расчета избыточного ингибиования по сравнению с аддитивностью Леве для каждой комбинации доз соединения 3 и палбоциклиба. Что касается отдельных средств, то самые высокие дозы 1,0 мкМ соединения 3 и 2,5 мкМ палбоциклиба не приводили полностью к остановке роста клеток, но комбинация соединения 3 в дозе 1,0 мкМ и палбоциклиба в дозе 2,5 мкМ приводила к полной остановке роста клеток (т.е. эффект 100%). Кроме того, в диапазоне 15 более низких доз соединения 3 и палбоциклиба при объединении снижается пролиферация клеток в большей степени по сравнению с соответствующими дозами одного средства. Избыточное ингибиование по сравнению с аддитивностью рассчитывали с использованием модели аддитивности Леве, и синергетические значения наблюдали, начиная с 0,010 мкМ соединения 3 и 0,025 мкМ палбоциклиба.

20 25 Пример 4 - Противоопухолевые эффекты и влияние на массу тела перорального соединения 1 и палбоциклиба у самок голых мышей, несущих подкожные полученные от пациентов с раком молочной железы опухолевые ксенотрансплантаты, несущие ER α ^{WT/Y537S}

30 На фиг. 8 и 9 показаны противоопухолевые эффекты (слева) и влияние на массу тела (справа) самок голых мышей, которым перорально вводили ежедневно соединение 1 в дозе 3 мг/кг и 10 мг/кг в виде единственного средства или в комбинации с палбоциклибом в дозе 25 мг/кг и 75 мг/кг в модели ST941 PDX с ER α ^{WT/Y537S}. Палбоциклиб, в качестве отдельного средства в дозе 25 мг/кг значительно не 35 ингибиравал рост опухоли с 13% TGI, тогда как в дозе 75 мг/кг значительно ингибиравал рост опухоли с 69% TGI ($P<0,0001$, фиг. 8 и фиг. 9), не вызывая SD на день 38. Единственное средство соединение 1 в дозах 3 мг/кг и 10 мг/кг приводило к 40 значительному ингибираванию роста опухоли с TGI 50% и 71% ($P<0,0001$) (фиг. 8 и фиг. 9), соответственно, и индуцировало SD у 1/8 мышей в день 38.

40 Комбинация соединения 1 в дозе 3 мг/кг и палбоциклиба в дозе 25 мг/кг или 75 мг/кг приводила к значительному усилению ингибиравания роста опухоли по сравнению с контрольными наполнителями с SD, индуцируемым у 4/8 и 8/8 мышей, соответственно, в день 38 (TGI 80% и 88%, соответственно, $P<0,0001$) (фиг. 8).

45 Комбинация соединения 1 в дозе 10 мг/кг и палбоциклиба в дозе 25 мг/кг или 75 мг/кг также приводила к значительному усилению ингибиравания роста опухоли по сравнению с контрольными наполнителями с SD, индуцированным у 6/8 и 8/8 мышей, соответственно, в день 38 (TGI 86% и 91%, соответственно, $P<0,0001$) (фиг. 9). Кроме того, комбинация соединения 1 в дозе 3 или 10 мг/кг и палбоциклиба в дозе 75 мг/кг увеличивала продолжительность реакции с регрессиями, наблюдаемыми при более

длительном лечении.

(57) Формула изобретения

1. Способ лечения ERα-положительного рака молочной железы у нуждающегося в этом пациенте, предусматривающий введение пациенту комбинации эффективного количества ингибитора ERα, выбранного из группы, состоящей из (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамида или его фармацевтически приемлемой соли, и эффективного количества ингибитора CDK 4/6, выбранного из группы, состоящей из 6-ацетил-8-цикlopентил-5-метил-2-{{[5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил]амино}пиридо[2,3-d]пиrimидин-7(8Н)-она (палбоциклиба); N-(5-((4-этилпиперазин-1-ил)метил)пиридин-2-ил)-5-фтор-4-(4-фтор-1-изопропил-2-метил-1Н-бензо[d]имида-6-ил)пиrimидин-2-амина (абемациклиба); и диметиламида 7-цикlopентил-2-(5-пиперазин-1-илпиридин-2-иламино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиrimидин-6-карбоновой кислоты (рибоциклиба) или его фармацевтически приемлемой соли.

2. Способ по п. 1, при котором ингибитор ERα или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозировке от 50 мг до 1000 мг.

3. Способ по п. 2, при котором ингибитор ERα или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозировке 300 мг.

4. Способ по любому из пп. 1-3, при котором ингибитор CDK 4/6 представляет собой палбоциклиб.

5. Способ по п. 4, при котором палбоциклиб вводят в суточной дозировке 75 мг.

6. Способ по п. 4, при котором палбоциклиб вводят в суточной дозировке 100 мг.

7. Способ по п. 4, при котором палбоциклиб вводят в суточной дозировке 125 мг.

8. Способ по любому из пп. 1-3, при котором ингибитор CDK 4/6 представляет собой рибоциклиб.

9. Способ по п. 8, при котором рибоциклиб вводят в суточной дозировке 200 мг/день.

10. Способ по п. 8, при котором рибоциклиб вводят в суточной дозировке 400 мг/день.

11. Способ по п. 8, при котором рибоциклиб вводят в суточной дозировке 600 мг/день.

12. Способ по любому из пп. 1-3, при котором ингибитор CDK 4/6 представляет собой абемациклиб.

13. Способ по п. 12, при котором абемациклиб вводят в суточной дозировке 200 мг/день.

14. Способ по п. 12, при котором абемациклиб вводят в суточной дозировке 300 мг/день.

15. Способ по п. 12, при котором абемациклиб вводят в суточной дозировке 400 мг/день.

16. Способ по любому из пп. 1-15, при котором ингибитор ERα или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде отдельных составов.

17. Способ по любому из пп. 1-15, при котором ингибитор ERα или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде единственного состава.

18. Способ по любому из пп. 1-15, при котором ингибитор ERα или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят последовательно.

19. Способ по любому из пп. 1-15, при котором ингибитор ER_α или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят одновременно.

20. Способ по любому из пп. 1-19, при котором ингибитор ER_α представляет собой

5 форму свободного основания ингибитора ER_α.

21. Способ по любому из пп. 1-19, при котором фармацевтически приемлемая соль ингибитора ER представляет собой гидрохлоридную соль.

22. Фармацевтический состав для лечения ER_α-положительного рака молочной железы у нуждающегося в этом пациента, содержащий эффективное количество

10 ингибитора ER_α, выбранного из группы, состоящей из (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол)-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамида или его фармацевтически приемлемой соли, и эффективное количество CDK 4/6 ингибитора, выбранного из группы, состоящей из 6-ацетил-8-цикlopентил-5-метил-2-{{5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил]амино}пиридо[2,3-d]

15 пиридин-7(8Н)-она (палбоциклиба); N-(5-((4-этилпиперазин-1-ил)метил)пиридин-2-ил)-5-фтор-4-(4-фтор-1-изопропил-2-метил-1Н-бензо[d]имида-6-ил)пиридин-2-амина (абемациклиба); и диметиламида 7-цикlopентил-2-(5-пиперазин-1-илпиридин-2-иламино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиридин-6-карбоновой кислоты (рибоциклиба) или его фармацевтически приемлемой соли.

20 23. Фармацевтический состав по п. 22, содержащий форму свободного основания ингибитора ER_α.

24. Фармацевтический состав по п. 22, в котором ингибитор ER_α представляет собой фармацевтически приемлемую соль (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол)-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-

25 енамида.

25. Фармацевтический состав по п. 24, в котором фармацевтически приемлемая соль представляет собой форму гидрохлоридной соли (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол)-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамида.

30 26. Применение комбинации эффективного количества ингибитора ER_α, выбранного из группы, состоящей из (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол)-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамида или его фармацевтически приемлемой соли и эффективного количества ингибитора CDK 4/6, выбранного из группы, состоящей из 6-ацетил-8-цикlopентил-5-метил-2-{{5-

35 (пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил]амино}пиридо[2,3-d]пиридин-7(8Н)-она (палбоциклиба); N-(5-((4-этилпиперазин-1-ил)метил)пиридин-2-ил)-5-фтор-4-(4-фтор-1-изопропил-2-метил-1Н-бензо[d]имида-6-ил)пиридин-2-амина (абемациклиба); и диметиламида 7-цикlopентил-2-(5-пиперазин-1-илпиридин-2-иламино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиридин-6-карбоновой кислоты (рибоциклиба) или его фармацевтически приемлемой соли при

40 лечении ER_α-положительного рака молочной железы.

27. Применение комбинации эффективного количества ингибитора ER_α, выбранного из группы, состоящей из (E)-N,N-диметил-4-((2-((5-((Z)-4,4,4-трифтор-1-(3-фтор-1Н-индазол)-5-ил)-2-фенилбут-1-ен-1-ил)пиридин-2-ил)окси)этил)амино)бут-2-енамида или его фармацевтически приемлемой соли, и эффективного количества ингибитора CDK

45 4/6, выбранного из группы, состоящей из 6-ацетил-8-цикlopентил-5-метил-2-{{5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил]амино}пиридо[2,3-d]пиридин-7(8Н)-она (палбоциклиба); N-(5-((4-этилпиперазин-1-ил)метил)пиридин-2-ил)-5-фтор-4-(4-фтор-1-изопропил-2-метил-1Н-бензо[d]имида-6-ил)пиридин-2-амина (абемациклиба); и диметиламида

7-цикlopентил-2-(5-пиперазин-1-илпиридин-2-иламино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиrimидин-6-карбоновой кислоты (рибоциклиба) или его фармацевтически приемлемой соли при получении лекарственного средства для лечения ERα-положительного рака молочной железы.

- 5 28. Применение по п. 26, при котором ингибитор ERα или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозировке от 50 мг до 1000 мг и, предпочтительно, в суточной дозировке 300 мг-500 мг.
- 10 29. Применение по п. 26, при котором ингибитор CDK 4/6 представляет собой рибоциклиб.
- 10 30. Применение по п. 29, при котором рибоциклиб вводят в суточной дозировке 75 мг, или 100 мг, или 125 мг.
- 15 31. Применение по п. 26, при котором ингибитор CDK 4/6 представляет собой рибоциклиб.
- 15 32. Применение по п. 26, при котором ингибитор CDK 4/6 представляет собой абемациклиб.
- 15 33. Применение по любому из пп. 26 или 28-32, при котором ингибитор ERα или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде единственного состава.
- 20 34. Применение по любому из пп. 26 или 28-32, при котором ингибитор ERα или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде отдельных составов.
- 25 35. Применение по п. 34, при котором ингибитор ERα или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят последовательно.
- 25 36. Применение по п. 34, при котором ингибитор ERα или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор CDK 4/6 или его фармацевтически приемлемую соль вводят одновременно.
- 30 37. Применение по любому из пп. 26 или 28-36, при котором ингибитор ERα представляет собой форму свободного основания или при котором фармацевтически приемлемая соль ингибитора ER представляет собой гидрохлоридную соль.

35

40

45

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Эйсай Эр&Ди Менеджмент Ко., Лтд.

Karr, Craig

Rioux, Nathalie

Korpal, Manav

Smith, Peter

<120> Комбинированная терапия для лечения рака молочной железы

<130> 0080171-000414

<150> US 62/472,345

<151> 2017-03-16

<160> 2

<170> PatentIn версия 3.5

<210> 1

<211> 39

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 1

aagaacgtgg tgccctctc tgacctgtg ctggagatg 39

<210> 2

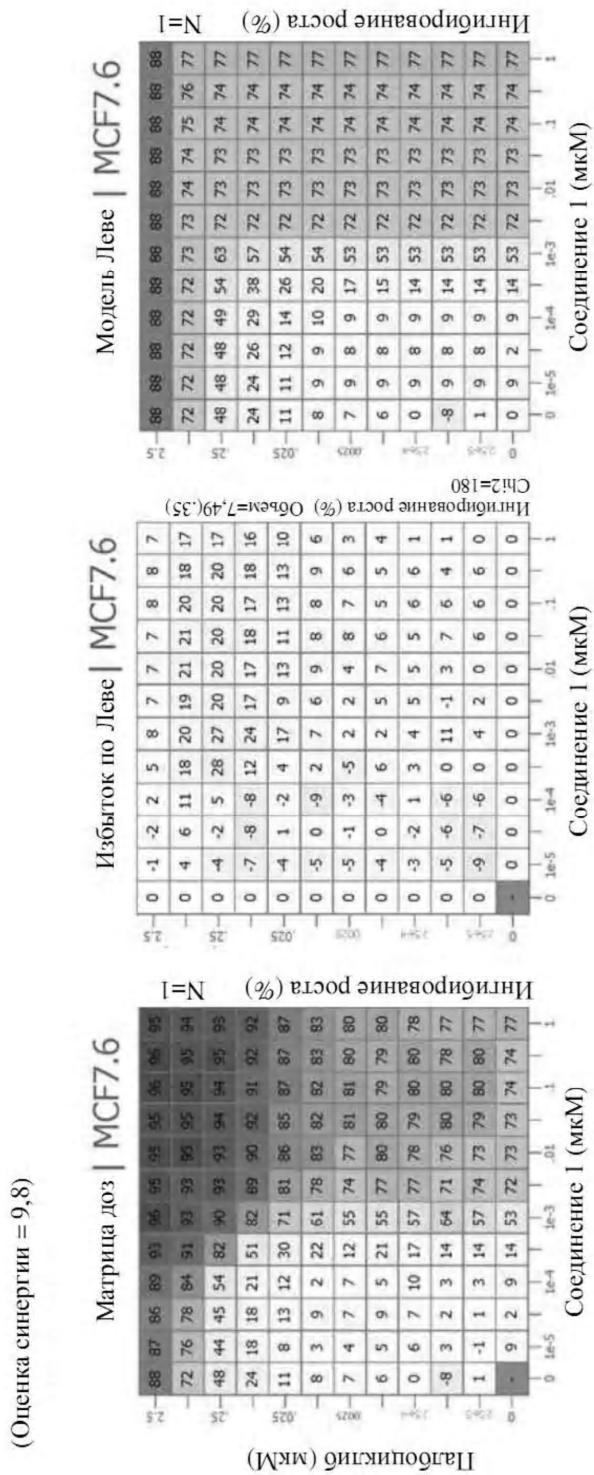
<211> 39

<212> ДНК

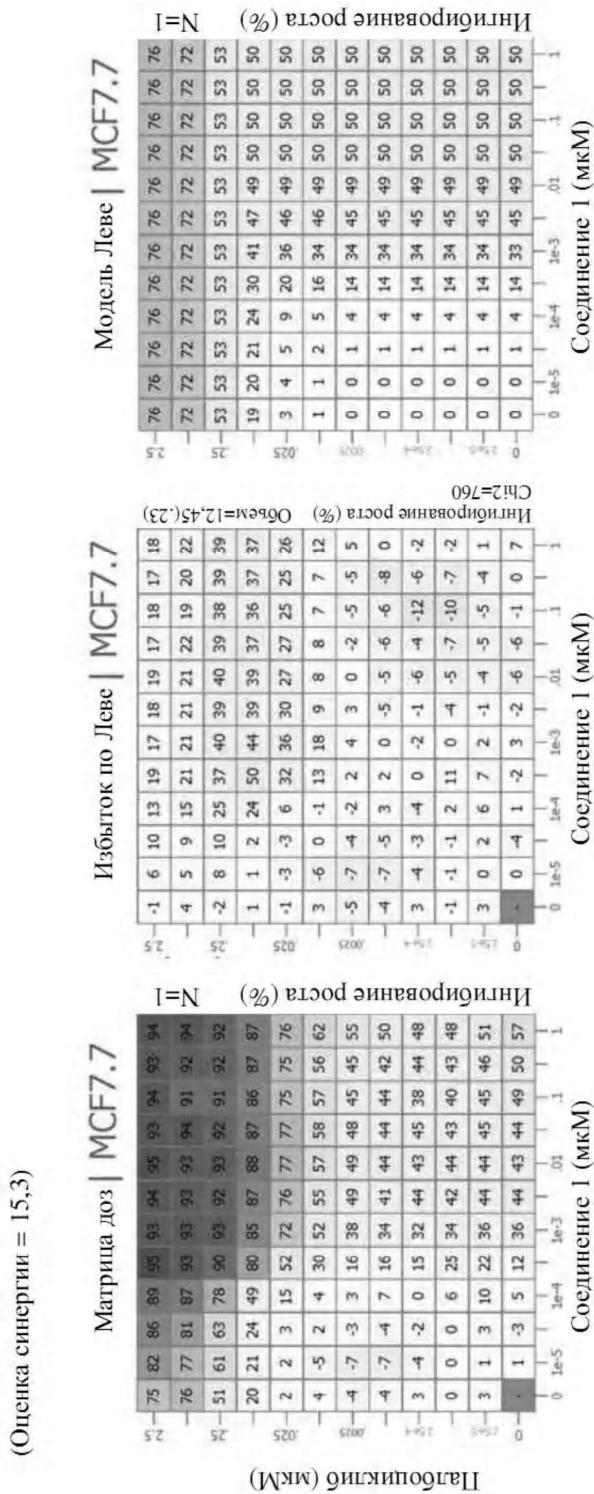
<213> Homo sapiens

<400> 2

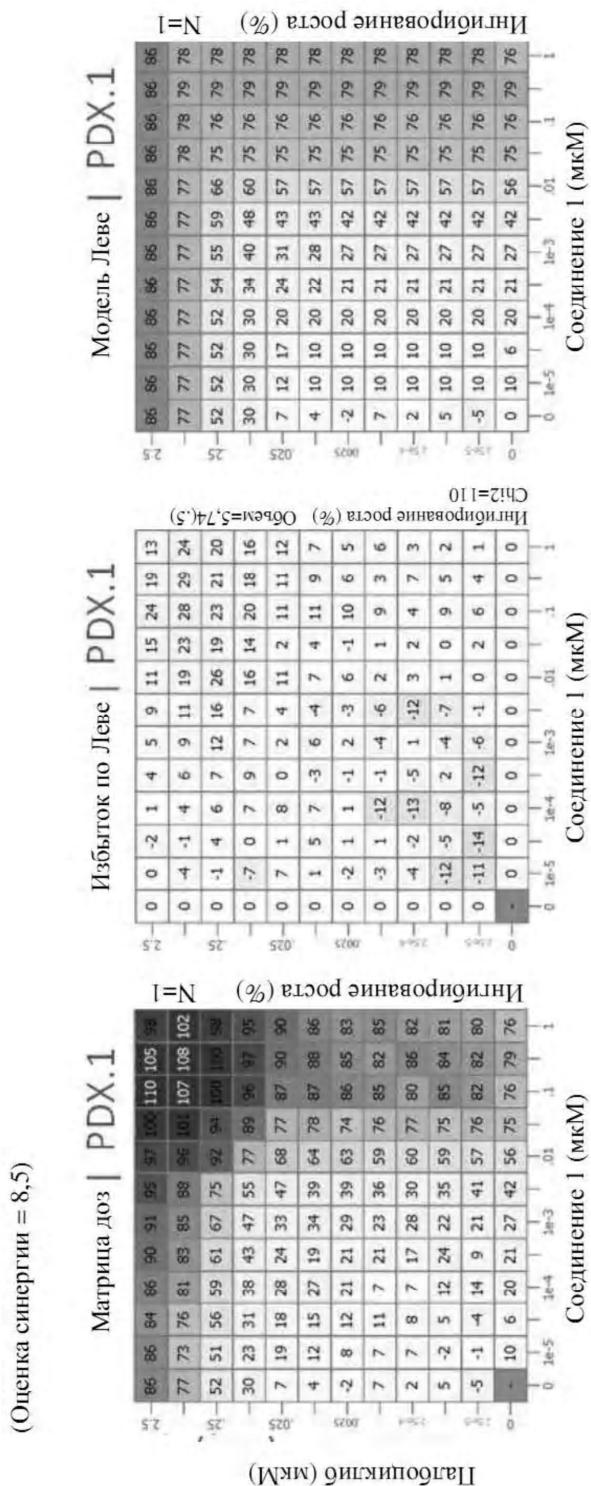
catctccagec agcaggtag agagggcac cacgtttt 39

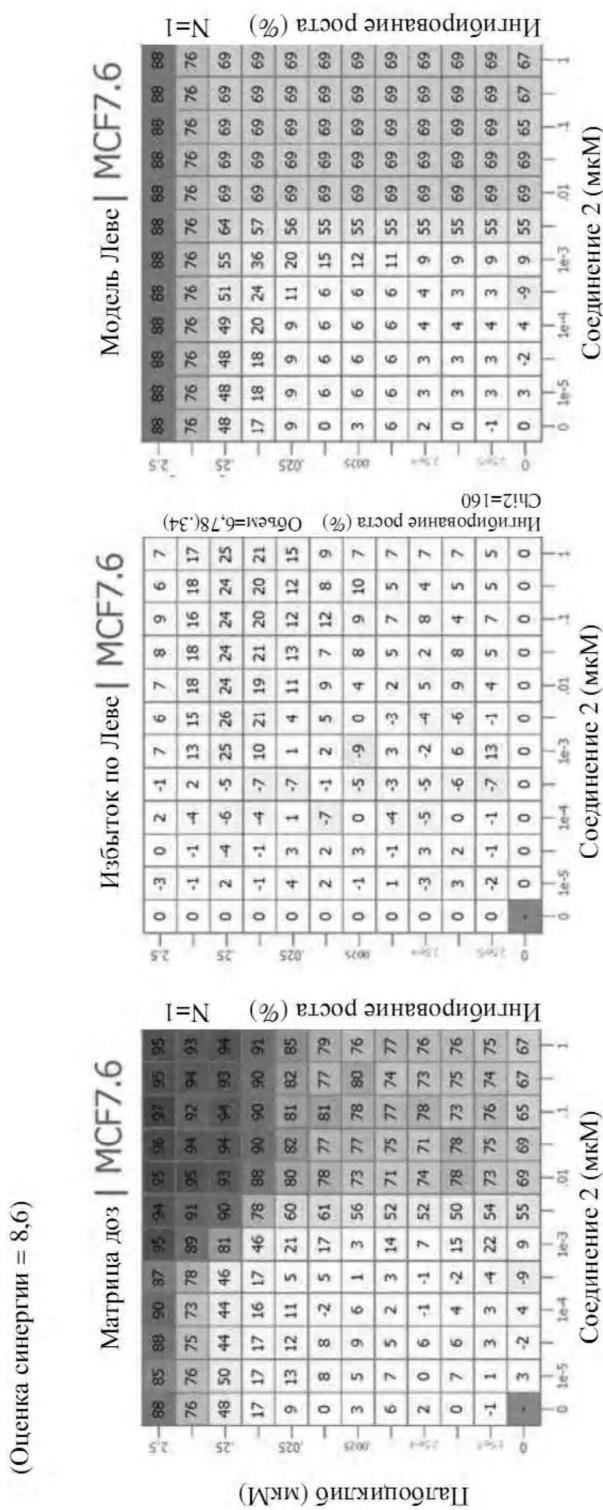


Фиг. 1

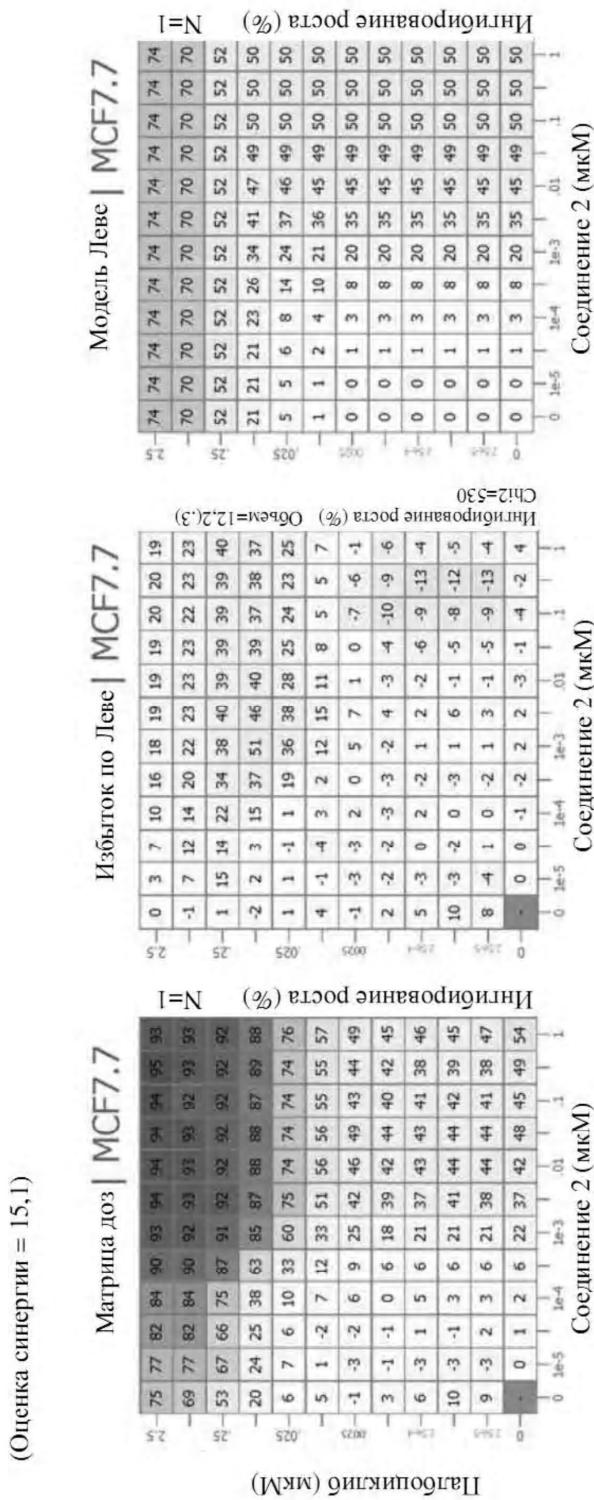


Фиг. 2

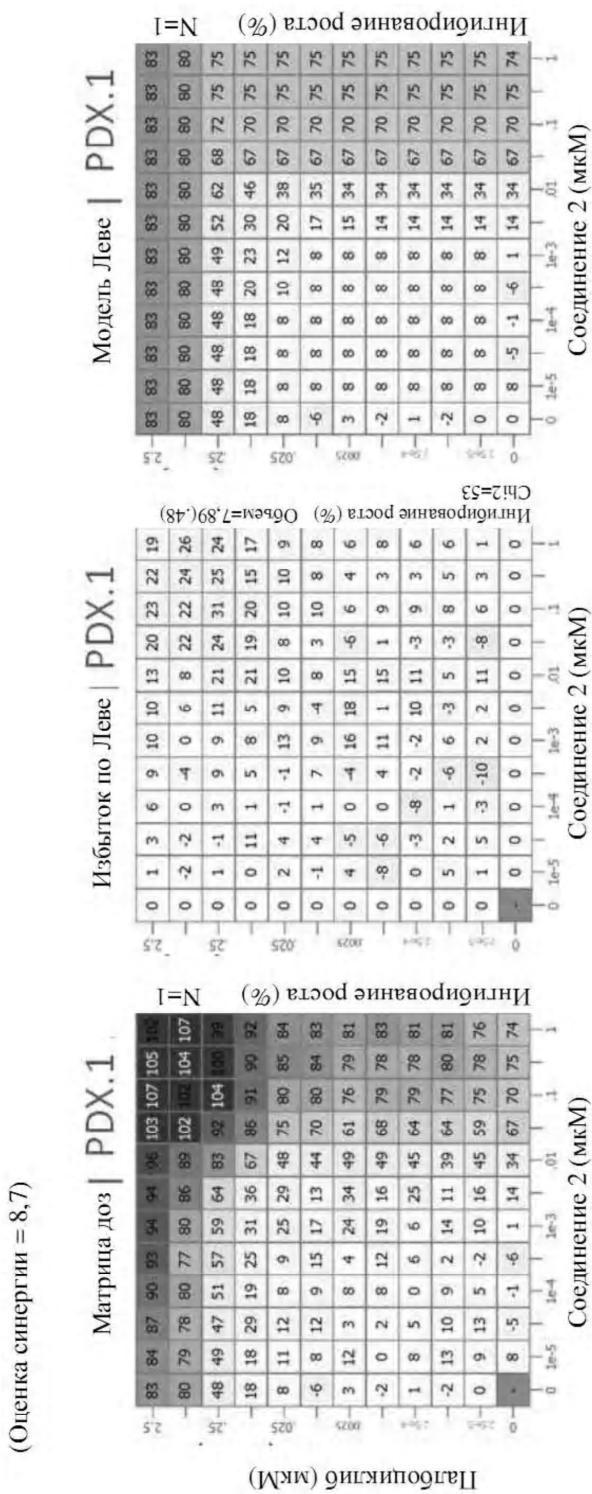




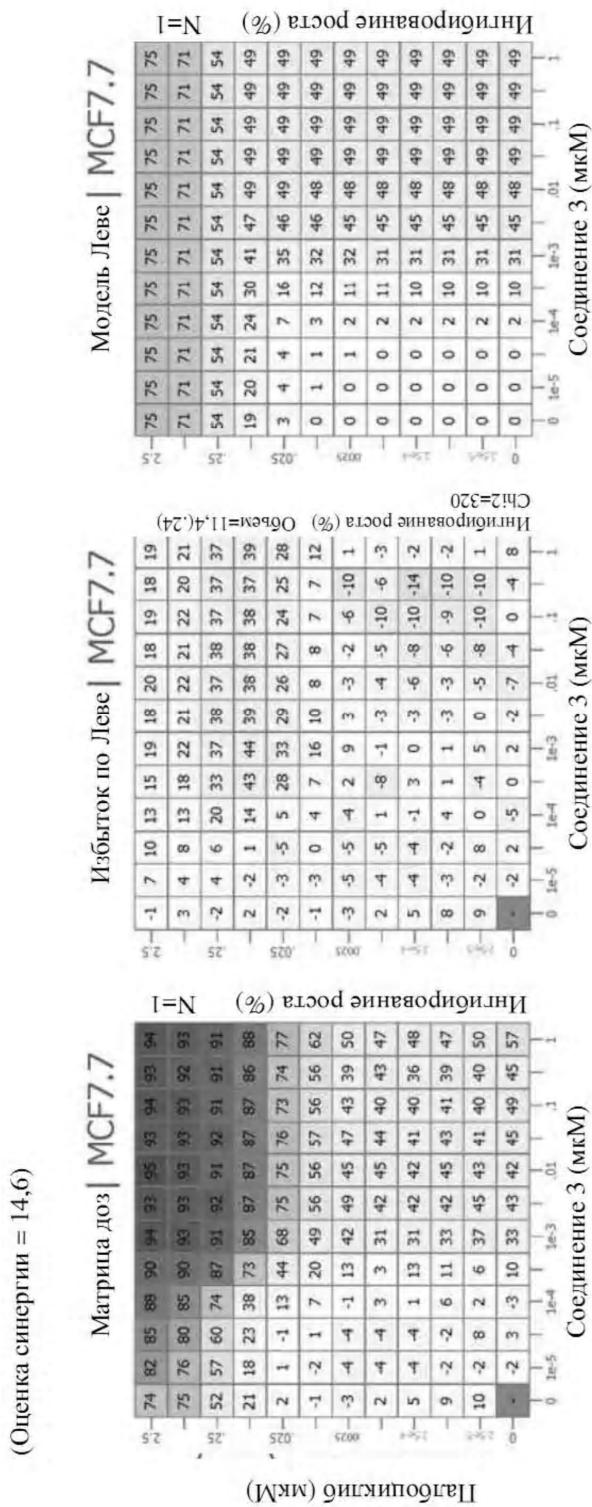
Фиг. 4



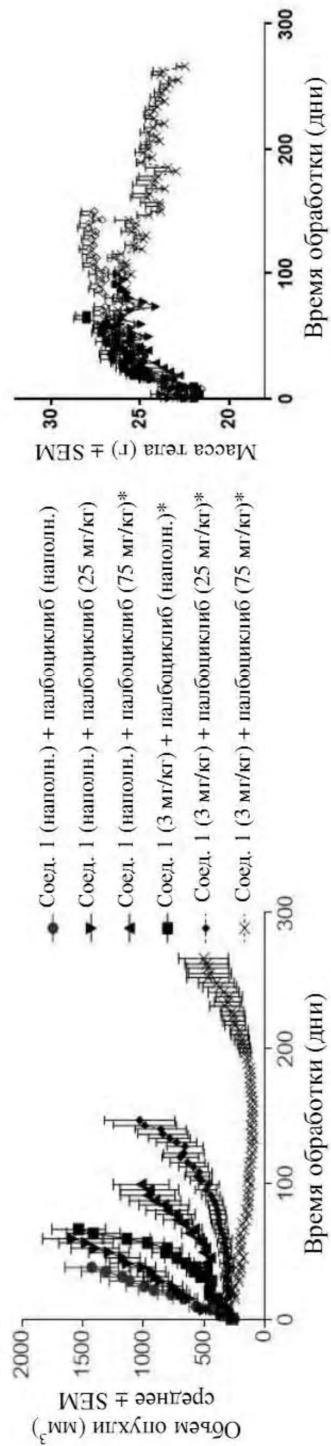
Фиг. 5



Фиг. 6

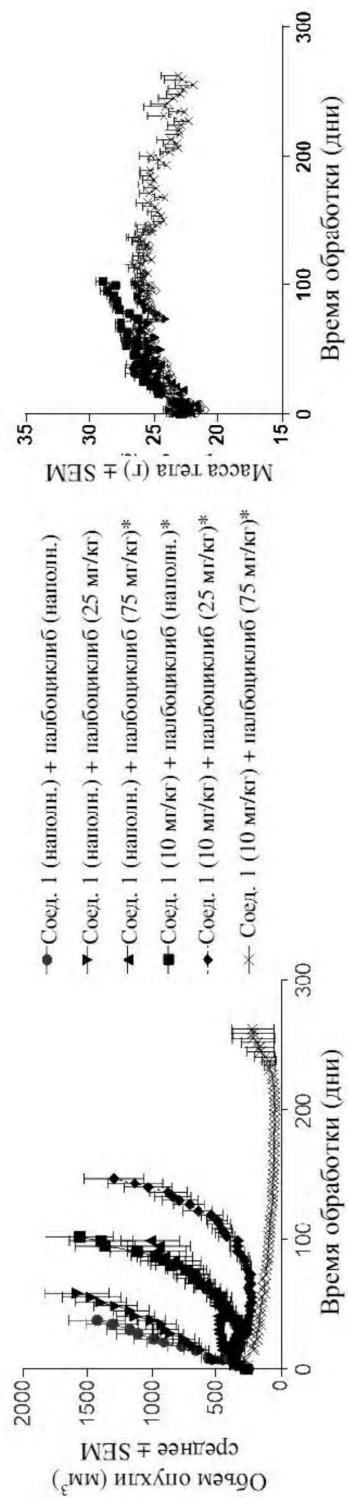


Фиг. 7



Фиг. 8

9/9



Фиг. 9