



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **110964** (13) **C2**
(51) МПК (2016.01)
A61K 31/517 (2006.01)
A61P 35/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

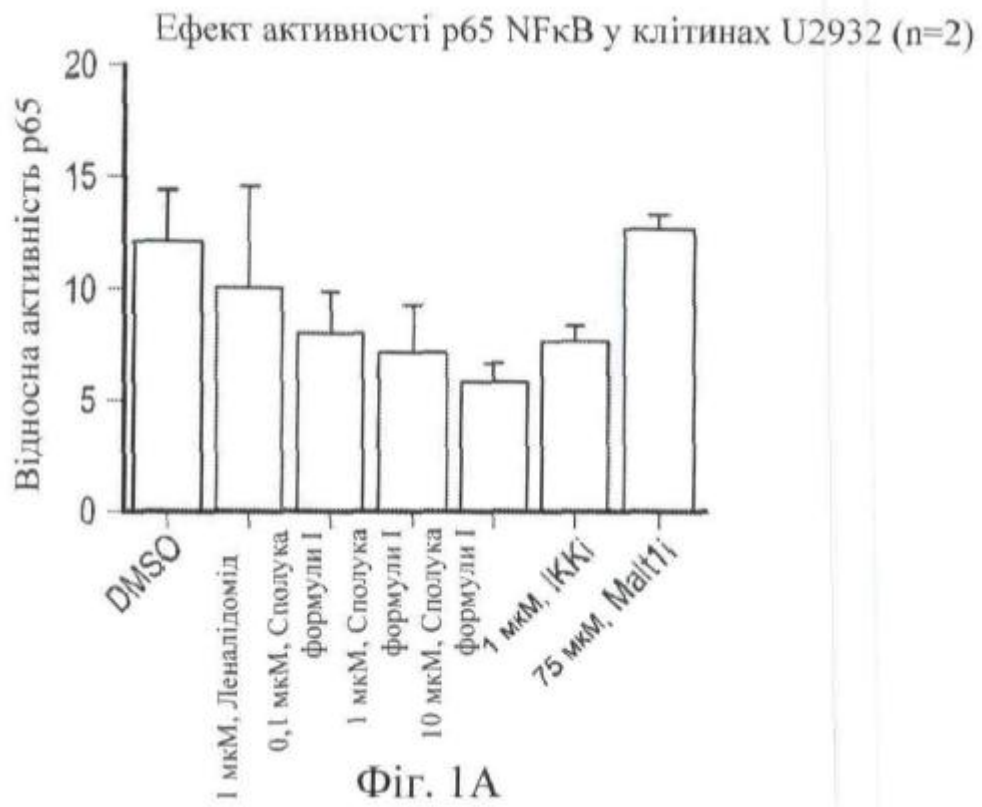
(21) Номер заявки:	а 2013 11939	(72) Винахідник(и):	Мюллер Джордж В. (US), Шефер Пітер Х. (US), Ман Хон-Вах (US), Чжан Лін-Хуа (US), Гандхі Аніта (US), Чопра Раджеш (US)
(22) Дата подання заявки:	09.03.2012	(73) Власник(и):	СЕЛДЖИН КОРПОРЕЙШН, 86 Morris Avenue, Summit, NJ 07901, United States of America (US)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.03.2016	(74) Представник:	Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/451,995, 61/480,272	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 2008/039489 A2, 03.04.2008
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	11.03.2011, 28.04.2011		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US, US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	10.01.2014, Бюл.№ 1		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.03.2016, Бюл.№ 5		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/US2012/028498, 09.03.2012		

(54) ЗАСТОСУВАННЯ 3-(5-АМІНО-2-МЕТИЛ-4-ОКСО-4Н-ХІНАЗОЛІН-3-ІЛ)ПІПЕРИДИН-2,6-ДІОНУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ РАКУ

(57) Реферат:

Винахід стосується застосування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону або його енантіомеру, або суміші його енантіомерів, або його фармацевтично прийнятної солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу для виготовлення лікарського засобу для лікування або ведення пацієнта, що страждає на рак, у т.ч. неходжкінську лімфому.

UA 110964 C2



Дана заявка заявляє пріоритет попередньої заявки на патент США № 61/451,995, поданої 11 березня 2011 року, і попередньої заявки на патент США № 61/480,272, поданої 28 квітня 2011 року, повні змісти яких включені в даний опис шляхом посилання.

1. Галузь, до якої належить винахід

Даний винахід стосується способів лікування, попередження і/або ведення пацієнтів, які страждають на різні форми раку, які включають введення пацієнту 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону або його енантімеру або суміші його енантімерів або його фармацевтично прийнятної солі, сольовату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу.

2. Передумови винаходу

2.1 Патобіологія раку

Рак характеризується в першу чергу збільшенням кількості патологічних клітин, які походять з даної нормальної тканини, інвазією цих патологічних клітин у прилягаючі тканини або поширенням злоякісних клітин по лімфатичній або кровоносній системі в регіональні лімфовузли й у віддалені ділянки (метастазуванням). Клінічні дані й молекулярно-біологічні дослідження вказують на те, що рак являє собою багатоетапний процес, який починається невеликими пренеопластичними змінами, які можуть у певних умовах прогресувати в неоплазію. Неопластичне ураження може виникати клонально й розвивати зростаючу здатність до інвазії, росту, метастазування й гетерогенності, зокрема, в умовах, при яких неопластичні клітини уникають імунного контролю з боку організму хазяїна. Див. Roitt, I., Brostoff J and Kale, D., Immunology, 17.1-17.12 (3rd ed., Mosby, St. Louis, Mo., 1993).

Існує величезна різноманітність форм раку, які докладно описані в медичній літературі. Приклади включають рак легенів, ободової кишки, прямої кишки, передміхурової залози, молочної залози, мозку й кишечнику. Захворюваність раком продовжує зростати, оскільки загальна популяція старіє, оскільки розвиваються нові форми раку й оскільки ростуть сприйнятливі популяції (наприклад, людей, інфікованих ВІЛ, або підданих надлишковому впливу сонячного випромінювання). Тому існує величезна потреба в нових способах і композиціях, які можуть застосовуватися для лікування пацієнтів, що страждають на рак.

Багато типів раку пов'язані з утворенням нових судин, процесом, відомим як ангіогенез. Були з'ясовано декілька механізмів, задіяних в ангіогенезі, викликаному пухлинами. Найбільш безпосереднім із цих механізмів є секреція пухлинними клітинами цитокінів з ангіогенними властивостями. Приклади цих цитокінів включають кислотний і основний фактор росту фібробластів (а, b-FGF), ангіогенін, судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF) і TNF- α (фактор некрозу пухлин-альфа). Альтернативно, пухлинні клітини можуть вивільняти ангіогенні пептиди за допомогою продукції протеаз і наступного руйнування позаклітинної матриці, де накопичуються деякі цитокіни (наприклад, b-FGF). Ангіогенез може бути викликаний також опосередковано за рахунок залучення запальних клітин (зокрема, макрофагів) і наступного вивільнення з них ангіогенних цитокінів (наприклад, TNF- α , b-FGF).

Лімфома стосується форм раку, які розвиваються в лімфатичній системі. Лімфома характеризується злоякісними новоутвореннями з лімфоцитів — В лімфоцитів і Т лімфоцитів (тобто, В-клітин і Т-клітин). Лімфома в цілому починається в лімфовузлах або скупченнях лімфатичної тканини в органах, включаючи без обмеження шлунок або кишечник. Лімфома може залучати кістковий мозок і в деяких випадках кров. Лімфома може поширюватися з однієї ділянки на інші частини тіла.

Лікування різних форм лімфом описане, наприклад, у патенті США № 7468363, повний зміст якого включений в дану заявку шляхом посилання. Такі лімфоми включають без обмеження лімфому Ходжкіна, неходжкінську лімфому, шкірну В-клітинну лімфому, активовану В-клітинну лімфому, дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому (DLBCL), мантийноклітинну лімфому (MCL), фолікулярну лімфому (лімфому із клітин фолікулярного центру), трансформовану лімфому, лімфоцитарну лімфому проміжної диференціації, проміжну лімфоцитарну лімфому (ILL), дифузну низькодиференційовану лімфоцитарну лімфому (PDL), центроцитарну лімфому, дифузну лімфому з малих розщеплених клітин (DSCCL), периферичні Т-клітинні лімфоми (PTCL), шкірну Т-клітинну лімфому й лімфому зони мантиї й низькодиференційовану фолікулярну лімфому.

Неходжкінська лімфома (NHL) є п'ятою по частоті формою раку й у чоловіків, і в жінок у США, причому, по оцінках, в 2007 році було зареєстровано 63190 нових випадків захворювання й 18660 випадків смерті. Див. Jemal A, et al., CA Cancer J Clin 2007; 57(1):43-66. Імовірність розвитку NHL збільшується з віком, і захворюваність NHL у літніх осіб неухильно зростала за останнє десятиліття, викликаючи заклопотаність у зв'язку із трендом старіння населення США. Див. Id. Clarke C A, et al. Cancer 2002; 94(7):2015-2023.

Дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому (DLBCL) становить приблизно одну третину

неходжкінських лімфом. Хоча деякі пацієнти з DLBCL виживають традиційною хіміотерапією, інші вмирають від цього захворювання. Протиракові лікарські засоби викликають швидку й стійку деплецію лімфоцитів, можливо, прямою індукцією апоптозу в зрілих Т- і В-клітин. Див. K. Stahnke. et al, Blood 2001, 98:3066-3073. Було показано, що абсолютна кількість лімфоцитів (ALC) є прогностичним чинником при фолікулярній неходжкінській лімфомі, і нещодавно отримані результати свідчили про те, що ALC при діагностиці є важливим прогностичним фактором при дифузній великоклітинній В-клітинній лімфомі. Див. D. Kim et al, Journal of Clinical Oncology, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 25, No. 18S (June 20 Supplement), 2007: 8082.

Лейкоз стосується злоякісних новоутворень кровотворних тканин. Різні форми лейкозів описані, наприклад, у патенті США № 7393862 і в попередній заявці на патент США № 60/380,842, поданій 17 травня 2002 року, повні змісти яких включені в даний опис шляхом посилання. Хоча за повідомленнями віруси викликають декілька форм лейкозу у тварин, причини лейкозу в людей у значній мірі невідомі. Див. посібник The Merck Manual, 944-952 (17th ed. 1999). Злоякісна трансформація звичайно відбувається в одиночній клітині за допомогою двох або більше стадій з наступною проліферацією й клональним поширенням. При деяких лейкозах були ідентифіковані специфічні хромосомні транслокації з відповідною морфологією лейкозних клітин і особливими клінічними ознаками (наприклад, транслокаціями 9 і 22 при хронічному мієлоцитарному лейкозі, і 15 і 17 при гострому промієлоцитарному лейкозі). Гострі лейкози являють собою переважно недиференційовані клітинні популяції, а хронічні лейкози - більш зрілі клітинні форми.

Гострі лейкози діляться на лімфобластичний (ALL) і не лімфобластичний (ANLL) типи. Див. посібник The Merck Manual, 946-949 (17th ed. 1999). Вони можуть додатково підрозділятися по їхньому морфологічному й цитохімічному виду відповідно до Франко-Американо-Британської (FAB) класифікації або відповідно до їхнього типу й ступеня диференціації. Найбільше класифікації допомагає використання антигенспецифічних В- і Т-клітин і моноклональних антитіл до мієлоїдного антигену. ALL являє собою переважно захворювання дитячого віку, яке діагностується лабораторними даними й дослідженням кісткового мозку. ANLL, також відомий як гострий мієлогенний лейкоз або гострий мієлобластичний лейкоз (AML), виникає в людей будь-якого віку і являє собою гострий лейкоз серед дорослих, що найчастіше зустрічається: він являє собою форму, звичайно пов'язану з опроміненням як етіологічним фактором.

Хронічні лейкози описані як такі, що є лімфоцитарними (CLL) або мієлоцитарними (CML). Див. посібник The Merck Manual, 949-952 (17th ed. 1999). CLL характеризується появою зрілих лімфоцитів у крові, кістковому мозку й лімфоїдних органах. Відмітною ознакою CLL є стійкий абсолютний лімфоцитоз (>5000/мкл) і збільшення кількості лімфоцитів у кістковому мозку. У більшості пацієнтів з CLL також є клональне поширення лімфоцитів з В-клітинними характеристиками. CLL являє собою захворювання середнього або літнього віку. При CML характерною ознакою є перевага гранулоцитарних клітин усіх стадій диференціації в крові, кістковому мозку, печінці, селезінці й інших органах. У пацієнта з наявністю симптомів при діагностиці загальна кількість лейкоцитів (WBC) звичайно становить приблизно 200000/мкл, але може досягати 1000000/мкл. CML відносно легко діагностувати через присутність філадельфійської хромосоми.

На додаток до категорій гострих і хронічних, новоутворення також класифікуються на основі розділення клітин, що викликають такі розлади, на попередники або периферичні. Див., наприклад, опубліковану заявку на патент США № 2008/0051379, опис якої повністю включений в дану заявку шляхом посилання. Новоутворення із клітин-попередників включають ALL і лімфобластичні лімфоми, і вони виникають у лімфоцитах перед тем як вони диференціювалися в Т- або В-клітини. Новоутворення з периферичних клітин являють собою ті, які виникають у лімфоцитах, що диференціювалися або в Т-, або в В-клітини. Такі периферичні новоутворення включають без обмеження В-клітинний CLL, В-клітинний пролімфоцитарний лейкоз, лімфоплазмацитарну лімфому, мантийноклітинну лімфому, фолікулярну лімфому, позавузлову В-клітинну лімфому маргінальної зони лімфоїдної тканини, зв'язаної зі слизовими оболонками, вузлову лімфому маргінальної зони, селезінкову лімфому маргінальної зони, волосатоклітинний лейкоз, плазмацитому, дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому й лімфому Беркитта. Більше ніж в 95 % випадків CLL відбувається клональне поширення В-клітинної лінії диференціації. Див. Cancer: Principles & Practice of Oncology (3rd Edition) (1989) (pp. 1843-1847). Менше ніж в 5 % випадків CLL пухлинні клітини мають Т-клітинний фенотип. Однак незважаючи на ці класифікації, патологічне порушення нормального гематопоезу є відмітною ознакою всіх лейкозів.

Множинна мієлома (MM) являє собою злоякісне захворювання, що розвивається в

кістковому мозку й характеризується надлишковою кількістю плазматичних клітин. У нормі, плазматичні клітини продукують антитіла й відіграють ключову роль в імунній функції. Однак неконтрольований ріст цих клітин веде до виникнення болю в кістках і їх переломів, анемії, інфекції й інших ускладнень. Множинна мієлома є другим по частоті гематологічним злоякісним захворюванням, хоча точні причини множинної мієломи залишаються невідомими. Множинна мієлома викликає високі рівні білків у крові, сечі й органах, включаючи без обмеження М-білок і інші імуноглобуліни (антитіла), альбумін і бета-2- мікроглобулін. М-білок, короткий для моноклонального білка, також відомий як парапротеїн, являє собою, зокрема, патологічний білок, який продукується мієломними плазматичними клітинами, і може бути виявлений у крові або в сечі майже всіх пацієнтів із множинною мієломою.

Симптоми з боку кісток скелета, включаючи біль у кістках, є одними з найбільш клінічно значущих симптомів множинної мієломи. Злоякісні плазматичні клітини вивільняють фактори, що стимулюють остеокласти (включаючи IL-1, IL-6 і TNF), які викликають вимивання кальцію з кісток, обумовлюючи літичні ураження; іншим симптомом є гіперкальцемія. Фактори, що стимулюють остеокласти, які також називаються цитокінами, можуть відвернути апоптоз або загибель мієломних клітин. В 50 % пацієнтів при діагностиці є рентгенологічно виявленими пов'язані з мієломою ураження кісток скелета. Інші звичайні клінічні симптоми множинної мієломи включають полінейропатію, анемію, підвищену в'язкість крові, інфекції й ниркову недостатність.

Солідні пухлини являють собою патологічні об'ємні утворення із тканини, які можуть містити, але звичайно не містять кісти або області скупчення рідини. Солідні пухлини можуть бути доброякісними (не раковими) або злоякісними (раковими). Різні типи солідних пухлин називаються по типу клітин, які їх утворюють. Приклади типів солідних пухлин включають без обмеження злоякісну меланому, карциному надниркової залози, карциному молочної залози, нирково-клітинний рак, карциному підшлункової залози, недрібноклітинну карциному легенів (NSCLC) і карциному невідомої первинної локалізації. Лікарські засоби, що звичайно вводяться пацієнтам з різними типами або стадіями солідних пухлин, включають без обмеження целебрекс, етопозид, циклофосфамід, доцетаксел, апецитабін, IFN (інтерферон), тамоксифен, IL-2 (інтерлейкін-2), GM-CSF (фактор, який стимулює колонії гранулоцитів-макрофагів) або їх комбінацію.

Хоча в пацієнтів, які досягають повної ремісії після первинної терапії, є достатня ймовірність лікування, менше ніж 10 % пацієнтів, у яких первинна терапія неефективна, або в яких відзначається рецидив захворювання, досягають лікування або ефективності терапії, що триває довше ніж 3 роки. Див. Cerny T, et al., *Ann Oncol* 2002; 13 Suppl 4:211-216.

Відомо, що ритуксимаб викликає делецію нормальних В-клітин в організмі. Див. M. Aklilu et al., *Annals of Oncology* 15:1109-1114, 2004. Віддалені імунологічні делеції В-клітин під дією ритуксимабу й характеристики відновлення пулу В-клітин у пацієнтів з лімфомою недостатньо визначені, незважаючи на широко поширене використання цієї терапії. Див. Jennifer H. Anolik et al., *Clinical Immunology*, vol. 122, issue 2, February 2007, pages 139-145.

Підхід до лікування пацієнтів з рецидивуючим або рефракторним захворюванням у значній мірі оснований на експериментальних способах лікування з наступною трансплантацією стовбурових клітин, що може не бути доцільним для пацієнтів з несприятливим функціональним статусом або літнім віком. Тому, існує величезна потреба в нових способах, які можна застосовувати для лікування пацієнтів з NHL.

Зв'язок між раком і зміненим клітинним метаболізмом був достатньо встановлений. Див. Cairns. R.A., et al. *Nature Rev.*, 2011, 11:85-95. Розуміння метаболізму пухлинних клітин і їх зв'язаних генетичних змін може привести до ідентифікації вдосконалених способів лікування раку. Див. те ж посилання. Наприклад, виживання й проліферацію пухлинних клітин за допомогою підвищеного метаболізму глюкози зв'язували із сигнальним шляхом PI3K (фосфатидилінозит-3-кінази), у результаті чого, мутації в пухлинних генах-супресорах пухлинного росту, таких як PTEN, активують метаболізм пухлинних клітин. Див. те ж посилання. AKT1 (також відомий як PKB (протеїнкіназа B)) стимулює метаболізм глюкози, пов'язаний з ростом пухлинних клітин, різними взаємодіями з генами PFKFB3, ENTPD5, mTOR і TSC2 (також відомі як туберин). Див. те ж посилання.

Фактори транскрипції HIF1 і HIF2 у значній мірі відповідальні за клітинну реакцію на стани низького вмісту кисню, часто пов'язані з пухлинами. Див. те ж посилання. Після активації, HIF1 стимулює здатність пухлинних клітин здійснювати гліколіз. Див. те ж посилання. Таким чином, інгібування HIF1 може сповільнити або викликати зворотний розвиток метаболізму пухлинних клітин. Активация HIF1 зв'язувалася з PI3K, білками-супресорами пухлин, такими як VHL (ген фон Гіппеля-Ландау), сукцинатдегідрогеназою (SDH) і фумаратгідратазою. Див. те ж посилання.

Фактор онкогенної транскрипції MYC також зв'язувався з метаболізмом пухлинних клітин, зокрема, із гліколізом. Див. те ж посилання. MYC також стимулює клітинну проліферацію метаболічними шляхами глутаміну. Див. те ж посилання.

АМФ-активована протеїнкіназа (АМРК) функціонує як метаболічний контрольний пункт, який пухлинні клітини повинні подолати для проліферації. Див. те ж посилання. Були ідентифіковано декілька мутацій, які пригнічують передачу сигналів АМРК у пухлинних клітинах. Див. Shackelford, D.B. & Shaw, R.J., *Nature Rev. Cancer*, 2009, 9:563-575. STK11 (серин/треонінкіназа 11) була ідентифікована як гена-супресора пухлинного росту, пов'язаного з роллю АМРК. Див. Cairns, R.A., et al. *Nature Rev.*, 2011, 11:85-95.

Фактор транскрипції p53, супресор пухлинного росту, також відіграє важливу роль у регуляції клітинного метаболізму. Див. те ж посилання. Втрата p53 у пухлинних клітинах може являти собою істотний фактор, який бере участь у змінах метаболізму пухлинних клітин на гліколітичний шлях. Див. те ж посилання. Фактор транскрипції OCT1, ще одна потенційна мішень для хіміотерапевтичних засобів, може кооперуватися з p53 у регуляції метаболізму пухлинних клітин. Див. те ж посилання.

Піруваткіназа M2 (PKM2) стимулює зміни клітинного метаболізму, які надають раковим клітинам метаболічні переваги, підтримуючи клітинну проліферацію. Див. те ж посилання. Наприклад, було виявлено, що клітини раку легенів, які більше експресують PKM2, ніж PKM1, мають таку перевагу. Див. те ж посилання. У клінічних умовах, PKM2 була ідентифікована як надекспресована при ряді типів раку. Див. те ж посилання. Таким чином, PKM2 може бути корисним біомаркером для раннього виявлення пухлин.

Мутації в ізоцитратдегідрогеназах IDH1 і IDH2 зв'язували з онкогенезом, зокрема, при гліобластомі й гострому мієлоїдному лейкозі. Див. Mardis, E.R. et al., *N. Engl. J. Med*, 2009, 361: 1058-1066; Parsons, D.W. et al, *Science*, 2008, 321: 1807-1812.

Захворюваність раком продовжує зростати, оскільки загальна популяція старіє, оскільки виникають нові випадки раку й оскільки росте сприйнятлива популяція (наприклад, людей, інфікованих ВІЛ, літніх осіб або осіб, підданих надлишковому впливу сонячного випромінювання). Тому існує величезна потреба в нових способах, видах лікування й композиціях, які можуть застосовуватися для лікування пацієнтів, які страждають на рак, включаючи без обмеження пацієнтів з лімфомою, NHL, множинною мієломою, AML, лейкозами й солідними пухлинами.

Відповідно, сполуки, які можуть стримувати і/або інгібувати небажаний ангиогенез, або інгібувати продукцію певних цитокінів, включаючи TNF- α , можуть застосовуватися при лікуванні й профілактиці різних форм раку.

2.2 Способи лікування раку

Сучасне лікування раку може включати хірургічне втручання, хіміотерапію, гормональну терапію і/або променеви терапію для знищення пухлинних клітин у пацієнта (див., наприклад, Stockdale, 1998, *Medicine*, vol. 3, Rubenstein and Federman, eds. Chapter 12, Section IV). Останнім часом, лікування раку могло також включати біологічну терапію або імунотерапію. Усі ці підходи можуть мати істотні недоліки для пацієнта. Хірургічне втручання може бути, наприклад, протипоказане внаслідок стану здоров'я пацієнта або може бути неприйнятно для пацієнта. Крім того, при операції може бути зроблене неповне видалення пухлинної тканини. Променева терапія ефективна тільки коли пухлинна тканина проявляє більш високу чутливість до опромінення, ніж здоровіша тканина. Променева терапія може також часто викликати тяжкі побічні ефекти. Гормональна терапія рідко призначається у вигляді окремого засобу. Хоча гормональна терапія може бути ефективною, її часто застосовують для запобігання або затримки рецидиву раку після того як більшість ракових клітин була вилучена із застосуванням інших видів лікування. Певні види біологічного й інших типів лікування обмежені по кількості й можуть викликати побічні ефекти, такі як висип або набряки, подібні до грипу симптоми, включаючи лихоманку, озноб і утом, проблеми зі шлунково-кишковим трактом або алергійні реакції.

Що стосується хіміотерапії, то існують різноманітні хіміотерапевтичні засоби, доступні для лікування раку. Ряд хіміотерапевтичних засобів діють шляхом інгібування синтезу ДНК або безпосередньо, або опосередковано шляхом інгібування біосинтезу попередників дезоксирибонуклеотид-трифосфату, для запобігання реплікації ДНК і супутнього клітинного розподілу. Див. Gilman et al, Goodman and Gilman's: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Tenth Ed. (Mcgraw Hill, New York).

Незважаючи на доступність різноманітних хіміотерапевтичних засобів, хіміотерапія має багато недоліків. Див. Stockdale, *Medicine*, vol. 3, Rubenstein and Federman, eds., ch. 12, sect. 10, 1998. Майже всі хіміотерапевтичні засоби токсичні, і хіміотерапія викликає істотні й часто

небезпечні побічні ефекти, включаючи тяжку нудоту, придушення кісткового мозку й імуносупресію. Крім того, навіть при введенні комбінацій хіміотерапевтичних засобів, багато пухлинних клітин стійкі або в них розвивається стійкість до хіміотерапевтичних засобів. Дійсно, ті клітини, які стійкі до певних хіміотерапевтичних засобів, застосовуваних у протоколі лікування, часто виявляються стійкими до інших лікарських засобів, навіть якщо ці засоби діють механізмом, відмінним від тих лікарських засобів, які застосовуються при певному лікуванні. Цей феномен називається стійкістю до множини лікарських засобів. Через стійкість до лікарських засобів, багато форм раку виявляються стійкими до стандартних протоколів хіміотерапевтичного лікування.

Існує значна потреба в безпечних і ефективних способах лікування, попередження й ведення пацієнтів, які страждають на рак, зокрема, форми раку, які стійкі до стандартних способів лікування, таких як хірургічне лікування, променева терапія, хіміотерапія й гормональна терапія, у той же час зменшуючи або виключаючи токсичні впливи і/або побічні ефекти, пов'язані зі звичайними способами лікування.

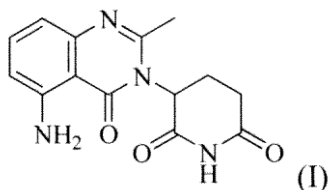
2.3 Цереблон

Білок Цереблон (CRBN) являє собою білок, який складається з 442 амінокислот, еволюційно консервативний від рослини до людини. У людей ген CRBN був ідентифікований як ген-«кандидат», можливо, відповідальний за розвиток аутосомальної рецесивної несиндромної затримки психічного розвитку (ARNSMR). Див. Higgins, J J. et al., *Neurology*, 2004, 63:1927-1931. CRBN спочатку характеризувався як новий білок, що містить RGS (регулятор передачі сигналів через G-білки), який взаємодіє з активованим кальцієм білком калієвих каналів (SLO1) у мозку щурів, і пізніше було показано, що він взаємодіє з потенціалозалежним хлоридним каналом (CIC-2) у сітківці з AMPK7 і білком DDB1. Див. Jo, S. et al., *J. Neurochem*, 2005, 94: 1212-1224; Hohberger B. et al., *FEBS Lett*, 2009, 583:633-637; Angers S. et al., *Nature*, 2006, 443:590-593. DDB1 був спочатку ідентифікований як білок ексцизійної репарації нуклеотидів, який асоційований зі зв'язуючим ушкоджену ДНК білком 2 (DDB2). Його дефектна активність викликає дефект репарації в пацієнтів з пігментною ксеродермією групи комплементу E (XPE). Представляється також, що DDB1 функціонує як компонент численних окремих комплексів убіквітину-протеїнлігази DCX (DDB1-CUL4-X-box) E3, які опосередковують убіквітування й наступне протеосомальне розщеплення білків-мішеней. CRBN також був ідентифікований як мішень для розробки терапевтичних засобів із приводу захворювань кори головного мозку. Див. опубліковану заявку на Міжнародний патент WO 2010/137547 A1.

Нещодавно цереблон був ідентифікований як ключова молекулярна мішень, яка зв'язується з талідомідом, викликаючи вроджені вади розвитку. Див. Ito, T. et al., *Science*, 2010, 327: 1345-1350. Було виявлено, що DDB1 взаємодіє з CRBN і, таким чином, був побічно пов'язаний з талідомідом. Крім того, талідомід був здатний інгібувати авто-убіквітинацію CRBN *in vitro*, свідчаючи про те, що талідомід є інгібітором убіквітинлігази E3. Важливо, що ця активність інгібувалася талідомідом у клітинах дикого типу, але не в клітинах з ділянками зв'язування мутованого CRBN, які запобігають зв'язуванню талідоміду. Ділянка зв'язування талідоміду був картований у високо консервативну C-кінцеву область, яка складається з 104 амінокислот, в CRBN. Обидві окремі точкові мутації в CRBN, Y384A і W386A були дефектними по зв'язуванню талідоміду, причому подвійний точковий мутант має найнижчу активність зв'язування талідоміду. Зв'язок між CRBN і тератогенним ефектом талідоміду була підтверджена в експериментальних моделях у смугастого данію й на курячих ембріонах. Розпізнавання мішеней талідоміду й інших лікарських засобів дозволить визначити молекулярні механізми ефективності і/або токсичності й може привести до одержання лікарських засобів з поліпшеними профілями ефективності й токсичності.

3. Короткий виклад суті винаходу

Даний винахід стосується способів лікування й попередження раку, включаючи первинний і метастатичний рак, а також рак, який є рефракторним або стійким до звичайної хіміотерапії, причому способи включають уведення потребуючому такого лікування або профілактики пацієнту терапевтично або профілактично ефективної кількості 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4H-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону, що має структурну формулу I:



або його енантіомеру або суміші його енантіомерів, або його фармацевтично прийнятної

солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу як окремого засобу або як частини комбінованого лікування.

Даний винахід також стосується способів ведення пацієнтів, які страждають на рак (наприклад, запобігання його рецидиву або подовження часу ремісії), які включають введення пацієнту, який потребує такого введення, терапевтично або профілактично ефективної кількості 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону або його енантіомеру або суміші його енантіомерів, або його фармацевтично прийнятної солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу.

Крім того, даний винахід також стосується способів лікування, попередження або ведення пацієнтів, які страждають на рак, що включають введення пацієнту, який потребує такого лікування, профілактики або ведення, терапевтично або профілактично ефективної кількості 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону або його енантіомеру або суміші його енантіомерів, або його фармацевтично прийнятної солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу в комбінації з лікуванням, звичайно застосовуваним для лікування, попередження або ведення пацієнтів, які страждають на рак. Приклади таких звичайних способів лікування включають без обмеження хірургічне лікування, хіміотерапію, променеву терапію, гормональну терапію, біологічну терапію й імунотерапію.

Даний винахід стосується способів лікування, попередження або ведення пацієнтів, які страждають на рак, що включають введення пацієнту, який потребує такого лікування, профілактики або ведення, терапевтично або профілактично ефективної кількості 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону або його енантіомеру або суміші його енантіомерів, або його фармацевтично прийнятної солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу, у кількості, яка достатня для забезпечення концентрації сполуки в плазмі в стаціонарному стані від приблизно 0,001 до приблизно 100 мкМ. В іншому варіанті здійснення, кількість достатня для забезпечення максимальної концентрації сполуки в плазмі в стаціонарному стані від приблизно 0,001 до приблизно 100 мкМ. В іншому варіанті здійснення, кількість достатня для забезпечення концентрації сполуки в плазмі безпосередньо перед введенням її чергової дози в стаціонарному стані від приблизно 0,01 до приблизно 100 мкМ. В іншому варіанті здійснення, кількість достатня для забезпечення площі під кривою (AUC) концентрації сполуки в плазмі в діапазоні від приблизно 100 до приблизно 100000 нг*год./мл.

У певних варіантах здійснення, винахід стосується способів лікування або ведення пацієнтів, які страждають на лімфому, множинну мієлому, лейкоз і солідні пухлини.

У деяких варіантах здійснення, лімфома вибрана із групи, яка складається з лімфоми Ходжкіна, неходжкінської лімфоми, лімфом, пов'язаних зі СНІДом, анапластичної великоклітинної лімфоми, ангіоімунобластної лімфоми, бластної NK-клітинної лімфоми, лімфоми Беркітта, лімфоми, подібної до лімфоми Беркітта, лімфоми із дрібних не розщеплених клітин, дрібноклітинної лімфоцитарної лімфоми, шкірної Т-клітинної лімфоми, дифузної великоклітинної В-клітинної лімфоми, Т-клітинної лімфоми ентеропатичного типу, лімфобластичної лімфоми, мантийноклітинної лімфоми, лімфоми маргінальної зони, назальної Т-клітинної лімфоми, дитячої лімфоми, периферичних Т-клітинних лімфом, первинної лімфоми центральної нервової системи, трансформованих лімфом, пов'язаних з лікуванням Т-клітинних лімфом і макроглобулінемії Вальденстрема.

У деяких варіантах здійснення, лейкоз вибраний із групи, яка складається з гострого мієлоїдного лейкозу (AML), Т-клітинного лейкозу, хронічного мієлоїдного лейкозу (CML), хронічного лімфоцитарного лейкозу (CLL) і гострого лімфобластичного лейкозу (ALL).

У деяких варіантах здійснення, солідна пухлина вибрана із групи, яка складається з меланоми, пухлин голови й шиї, карциноми молочної залози, недрібноклітинної карциноми легенів, карциноми яєчників, карциноми підшлункової залози, карциноми передміхурової залози, колоректальної карциноми й гепатоцелюлярної карциноми.

У деяких варіантах здійснення, винахід стосується способів лікування або ведення пацієнтів, які страждають на неходжкінські лімфоми, включаючи без обмеження дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому (DLBCL), з використанням прогностичних факторів.

У деяких варіантах здійснення, винахід стосується способів застосування генних і білкових біомаркерів як прогностичного показника клінічної чутливості до лімфоми, неходжкінської лімфоми, множинної мієломи, лейкозу, AML і/або солідних пухлин і ефективності лікування пацієнта 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном або його енантіомером або сумішшю його енантіомерів або його фармацевтично прийнятною сіллю, сольватом, гідратом, співкристалом, клатратом або поліморфом.

Способи за даним винаходом включають способи скринінгу або ідентифікації пацієнтів, які страждають на рак, наприклад, лімфому, неходжкінську лімфому, множинну мієлому, лейкоз,

AML і пацієнтів із солідними пухлинами, для лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)-піперидин-2,6-діоном або його енантіомером або сумішшю його енантіомерів або його фармацевтично прийнятною сіллю, сольватом, гідратом, співкристалом, клатратом або поліморфом. Зокрема, даний винахід стосується способів відбору пацієнтів, що мають більш високу частоту ефективності лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном.

В одному варіанті здійснення, даний винахід стосується способу прогнозування ефективності лікування пухлини в пацієнта з лімфоною, неходжкінською лімфоною, множинною мієлоною, лейкозом, AML або солідною пухлиною, причому спосіб включає одержання в пацієнта пухлинної тканини, очищення білка або РНК із пухлини й визначення присутності або відсутності біомаркера, наприклад, аналізом експресії білка або гена. Експресія, моніторинг якої здійснюється, може являти собою, наприклад, експресію мРНК або експресію білка.

У певних варіантах здійснення, біомаркер являє собою ген, пов'язаний з активованим В-клітинним фенотипом DLBCL. Гени вибираються із групи, яка складається з IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 і BLIMP/PDRM1. В одному варіанті здійснення, біомаркер являє собою NF-κB (ядерний фактор "каппа бі").

В одному варіанті здійснення, мРНК або білок очищають із пухлини, і присутність або відсутність біомаркера визначають аналізом експресії генів або білків. У певних варіантах здійснення, присутність або відсутність біомаркера визначають кількісною ПЛР у реальному часі (PCR (QRT-PCR)), мікрочипом, протоковою цитометрією або імунофлуоресценцією. В інших варіантах здійснення, присутність або відсутність біомаркера визначають методологіями на основі ферментного імуносорбентного аналізу (ELISA) або іншими подібними способами, відомими в даній галузі.

В іншому варіанті здійснення, винахід стосується способу прогнозування ефективності лікування пухлини в пацієнта з неходжкінською лімфоною, причому спосіб включає одержання пухлинних клітин у пацієнта, культивування клітин у присутності або під час відсутності 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону, очищення білка або РНК із культивованих клітин і вимірювання присутності або відсутності біомаркера, наприклад, аналіз експресії білків або генів. Експресія, моніторинг якої здійснюється, може являти собою, наприклад, експресію мРНК або експресію білка.

В іншому варіанті здійснення, винахід стосується способу моніторингу ефективності лікування пухлини 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном у пацієнта з лімфоною, неходжкінською лімфоною, множинною мієлоною, лейкозом, AML або солідною пухлиною. Спосіб включає одержання біологічного зразка в пацієнта, вимірювання експресії біомаркера в біологічному зразку, введення пацієнту 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону, після чого одержання другого біологічного зразка в пацієнта, вимірювання експресії біомаркера в другому біологічному зразку й порівняння рівнів експресії, причому збільшення рівня експресії біомаркера після лікування вказує на ймовірність ефективності лікування пухлини. В одному варіанті здійснення, знижений рівень експресії біомаркера після лікування вказує на ймовірність ефективності лікування пухлини. Експресія, моніторинг якої здійснюється, може являти собою, наприклад, експресію мРНК або експресію білка. Експресія в обробленому зразку може збільшуватися, наприклад, приблизно в 1,5, 2,0, 3, 5 або більше разів.

У ще одному варіанті здійснення, винахід стосується способу моніторингу дотримання пацієнтом протоколу медикаментозного лікування. Спосіб включає одержання біологічного зразка в пацієнта, вимірювання рівня експресії щонайменше одного біомаркера в зразку й визначення, підвищений або чи знижений рівень експресії, у порівнянні з рівнем експресії в контрольному необробленому зразку, причому збільшена або зменшена експресія біомаркера вказує на дотримання пацієнтом протоколу медикаментозного лікування. В одному варіанті здійснення, експресія одного або декількох біомаркерів збільшена. Експресія біомаркера, моніторинг якої здійснюється, може являти собою, наприклад, експресію мРНК або експресію білка. Експресія в обробленому зразку може збільшуватися, наприклад, приблизно в 1,5, 2,0, 3, 5 або більше разів.

В іншому варіанті здійснення, винахід стосується способу прогнозування чутливості до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном у пацієнта з лімфоною, неходжкінською лімфоною, множинною мієлоною, лейкозом, AML або солідною пухлиною. В одному варіанті здійснення, пацієнт являє собою пацієнта з неходжкінською лімфоною, зокрема, пацієнта з DLBCL. Спосіб включає одержання біологічного зразка в пацієнта, необов'язково, виділення або очищення мРНК із біологічного зразка, ампліфікацію транскриптів мРНК, наприклад, RT-PCR, причому більш високий вихідний рівень специфічного

біомаркера вказує на більш високу ймовірність того, що дана форма раку буде чутлива до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. У певних варіантах здійснення, біомаркер являє собою ген, пов'язаний з активованим В-клітинним фенотипом. Гени вибрані із групи, яка складається з IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 і BLIMP/PDRM1.

5 Винахід також стосується способів лікування або ведення страждаючих на рак пацієнтів застосуванням 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону з використанням CRBN як прогностичного фактора. У певних варіантах здійснення, винахід стосується способів скринінгу або ідентифікації страждаючих на рак пацієнтів для лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном з використанням рівнів CRBN як прогностичного фактора.

10 фактора. У деяких варіантах здійснення, винахід стосується способів відбору пацієнтів, що мають більш високу частоту ефективності лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном з використанням рівнів CRBN як прогностичного фактора.

В одному варіанті здійснення, винахід стосується способу прогнозування ефективності лікування страждаючого раком пацієнта 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном, причому спосіб включає одержання біологічного матеріалу в пацієнта й визначення присутності або відсутності CRBN.

15 В одному варіанті здійснення, спосіб включає одержання ракових клітин у пацієнта, культивування клітин у присутності або під час відсутності 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону, очищення білка або РНК із культивованих клітин і визначення присутності або відсутності біомаркера аналізом експресії білка або гена. Експресія, моніторинг якої здійснюється, може являти собою, наприклад, експресію мРНК або експресію білка. В одному варіанті здійснення, рак являє собою лімфому, лейкоз, множинну мієлому, солідну пухлину, неходжкінську лімфому або меланому.

20 В іншому варіанті здійснення, винахід стосується способу моніторингу ефективності медикаментозного лікування пухлини у страждаючого на рак пацієнта. Спосіб включає одержання біологічного зразка в пацієнта, вимірювання експресії біомаркера в біологічному зразку, введення одного або декількох лікарських засобів пацієнту, потім одержання другого біологічного зразка в пацієнта, вимірювання експресії біомаркера в другому біологічному зразку й порівняння рівнів експресії, причому підвищений рівень експресії біомаркера після лікування вказує на ймовірність ефективності лікування пухлини. В одному варіанті здійснення пацієнт, який страждає на рак, являє собою пацієнта з лімфомою, лейкозом, множинною мієломою, солідною пухлиною, неходжкінською лімфомою або меланомою.

25 В одному варіанті здійснення, знижений рівень експресії біомаркера після лікування вказує на ймовірність ефективності лікування пухлини. Експресія біомаркера, моніторинг якої здійснюється, може являти собою, наприклад, експресію мРНК або експресію білка. Експресія в обробленому зразку може збільшуватися, наприклад, приблизно в 1,5, 2,0, 3, 5 або більше разів. В одному варіанті здійснення, пухлина являє собою лімфому, лейкоз, множинну мієлому, солідну пухлину, неходжкінську лімфому або меланому.

30 В іншому варіанті здійснення, даний винахід стосується способу прогнозування чутливості до медикаментозної терапії в страждаючого на рак пацієнта, зокрема, пацієнта із множинною мієломою або неходжкінською лімфомою. Спосіб включає одержання біологічного зразка в пацієнта, необов'язково, виділення або очищення мРНК із біологічного зразка, ампліфікацію транскриптів мРНК, наприклад, RT-PCR, де більш високий вихідний рівень специфічного біомаркера вказує на більш високу ймовірність того, що злоякісне захворювання буде чутливо до лікування лікарським засобом. У певних варіантах здійснення, біомаркер являє собою ген або білок, пов'язаний із множинною мієломою або неходжкінською лімфомою. В одному варіанті здійснення, гени являють собою те гени, які пов'язані з CRBN, і вибрані із групи, яка складається з DDB1, DDB2, GSK3B, CUL4A, CUL4B, XBP-1, FAS1, RANBP6, DUS3L, PHGDH, AMPK, IRF4 і NFκB. В іншому варіанті здійснення, гени вибрані із групи, яка складається з DDB1, DDB2, IRF4 і NFκB.

35 В одному варіанті здійснення, винахід стосується способу ідентифікації пацієнта, що має лімфому, лейкоз, множинну мієлому, солідну пухлину, неходжкінську лімфому, дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому або меланому, чутливу до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном; ідентифікації гена або білка, зв'язаного з CRBN, причому присутність гена або білка, зв'язаного з CRBN, указує на наявність лімфоми, лейкозу, множинної мієломи, солідної пухлини, неходжкінської лімфоми, дифузної великоклітинної В-клітинної лімфоми або меланоми, чутливої до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. В одному варіанті здійснення, ген або білок, пов'язаний з CRBN, вибраний із групи, яка складається з DDB1, DDB2, IRF4 і NFκB.

40 В одному варіанті здійснення, ідентифікація пацієнта, що має лімфому, лейкоз, множинну

мієлому, солідну пухлину, неходжкінську лімфому або меланому, чутливу до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном, включає вимірювання рівня активності CRBN у пацієнта. В іншому варіанті здійснення, вимірювання рівня активності CRBN у пацієнта включає вимірювання DDB1, DDB2, IRF4 і/або NFκB у клітинах, отриманих у пацієнта.

В одному варіанті здійснення, винахід стосується способу лікування або ведення пацієнта, який страждає на неходжкінську лімфому, що включає:

(i) ідентифікацію пацієнта, який має лімфому, неходжкінську лімфому, множинну мієлому, лейкоз, AML або солідну пухлину, чутливу до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном, і

(ii) введення пацієнту терапевтично ефективної кількості 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону або його фармацевтично прийнятної солі або сольовату (наприклад, гідрату).

В одному варіанті здійснення, пацієнт страждає на неходжкінську лімфому. В одному варіанті здійснення, неходжкінська лімфома являє собою дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому. В іншому варіанті здійснення, неходжкінська лімфома стосується активованого В-клітинного фенотипу.

В одному варіанті здійснення, ідентифікація пацієнта, що має неходжкінську лімфому, чутливу до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном, включає ідентифікацію гена, пов'язаного з активованим В-клітинним фенотипом. В одному варіанті здійснення, ген, пов'язаний з активованим В-клітинним фенотипом, вибраний із групи, яка складається з IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 і BLIMP/PDRM1.

В одному варіанті здійснення, ідентифікація пацієнта, що має неходжкінську лімфому, чутливу до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном, включає вимірювання рівня активності NF-κB у пацієнта. В іншому варіанті здійснення, вимірювання рівня активності NF-κB у пацієнта включає вимірювання вихідного рівня активності NF-κB у пухлинних клітинах, отриманих у пацієнта.

Винахід також стосується наборів, які використовуються для прогнозування ймовірності ефективного лікування лімфоми, неходжкінської лімфоми, множинної мієломи, лейкозу, AML або солідної пухлини або для моніторингу ефективності лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. Набір включає тверду підкладку й засіб для виявлення експресії білка щонайменше одного біомаркера в біологічному зразку. У такому наборі може використовуватися, наприклад, індикаторна смужка, мембрана, чип, диск, тест-смужка, фільтр, мікросфера, предметне скло, багатоямковий планшет або оптичне волокно. Тверда підкладка набору може являти собою, наприклад, пластик, силікон, метал, смола, скло, мембрану, частинку, осад, гель, полімер, листок, сферу, полісахарид, капіляр, плівку, пластину або предметне скло. Біологічний зразок може являти собою, наприклад, клітинну культуру, лінію клітин, тканину, тканину ротової порожнини, тканину шлунково-кишкового тракту, орган, органелу, біологічну рідину, зразок крові, зразок сечі або зразок шкіри. Біологічний зразок може являти собою, наприклад, біоптат лімфовузла, біоптат кісткового мозку або зразок пухлинних клітин периферичної крові.

У додатковому варіанті здійснення, даний винахід стосується набору, який використовується для прогнозування ймовірності ефективного лікування або моніторингу ефективності лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. Набір включає тверду підкладку, нуклеїнові кислоти, що контактують із підкладкою, причому нуклеїнові кислоти комплементарні щонайменше 20, 50, 100, 200, 350 або більше основам мРНК, і засіб для виявлення експресії мРНК у біологічному зразку.

В іншому варіанті здійснення, даний винахід стосується набору, який використовується для прогнозування ефективності лікування або для моніторингу ефективності лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. Набір включає тверду підкладку, щонайменше одну нуклеїнову кислоту, що контактує з підкладкою, причому нуклеїнові кислоти комплементарні щонайменше 20, 50, 100, 200, 350, 500 або більше основам мРНК, і засіб для виявлення експресії мРНК у біологічному зразку.

У певних варіантах здійснення, у наборах за даним винаходом використовується засіб для виявлення експресії біомаркера кількісної ПЛР у реальному часі (PCR (QRT-PCR)), мікрочипом, протоковою цитометрією або імуофлуоресценцією. В інших варіантах здійснення, експресія біомаркера вимірюється методологіями на основі ELISA або інших аналогічних способів, відомих у даній галузі.

Даний винахід також стосується фармацевтичних композицій, що містять приблизно від 1 до 1000 мг 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону або його енантіомеру або суміші його енантіомерів або його фармацевтично прийнятної солі, сольовату, гідрату,

співкристалу, клатрату або поліморфу.

Даний винахід додатково стосується фармацевтичних композицій, що містять приблизно від 1 до 1000 мг 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону або його енантіомеру або суміші його енантіомерів або його фармацевтично прийнятної солі, сольовату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу; і один або декілька додаткових активних інгредієнтів. У певних варіантах здійснення, один або декілька додаткових активних інгредієнтів вибрані з облімерсену, мелфалану, G-CSF (фактора, що стимулює колонії гранулоцитів), GM-CSF (фактора, що стимулює колонії гранулоцитівомакрофагів), EPO, інгібітору сох-2 (циклооксигенази-2), топотекану, пентоксифіліну, ципрофлоксацину, таксотере, іритотекану, дексаметазону, доксорубіцину, вінкрестину, IL 2, IFN, дакарбазину, Ага-С (арабінофуранозилуцитидину), вінорелбіну й ізотретинону.

Даний винахід також стосується наборів, використовуваних для прогнозування ймовірності ефективного лікування лімфоми, лейкозу, множинної мієломи, солідної пухлини, неходжкінської лімфоми, дифузної великоклітинної В-клітинної лімфоми або меланоми або для моніторингу ефективності лікування одним або декількома лікарськими засобами, наприклад, 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. Набір включає тверду підкладку й засіб для виявлення експресії білка щонайменше одного біомаркера в біологічному зразку. У такому наборі може використовуватися, наприклад, індикаторна смужка, мембрана, чип, диск, тестуюча смужка, фільтр, мікросфера, предметне скло, багатоямковий планшет або оптичне волокно. Тверда підкладка набору може являти собою, наприклад, пластик, силікон, метал, смола, скло, мембрану, частинку, осад, гель, полімер, листок, сферу, полісахарид, капіляр, плівку, пластину або предметне скло. Біологічний зразок може являти собою, наприклад, клітинну культуру, лінію клітин, тканину, тканину ротової порожнини, тканину шлунково-кишкового тракту, орган, органелу, біологічну рідину, зразок крові, зразок сечі або зразок шкіри. Біологічний зразок може являти собою, наприклад, біоптат лімфовузла, біоптат кісткового мозку або зразок пухлинних клітин периферичної крові.

В іншому варіанті здійснення, набір включає тверду підкладку, нуклеїнові кислоти, що контактують із підкладкою, причому нуклеїнові кислоти комплементарні щонайменше до 20, 50, 100, 200, 350 або більше основам мРНК, і засіб для виявлення експресії мРНК у біологічному зразку.

У певних варіантах здійснення, у наборах за даним винаходом використовується засіб для виявлення експресії біомаркера кількісної ПЛР у реальному часі (PCR (QRT-PCR)), мікрочипом, протоковою цитометрією або імунофлуоресценцією. В інших варіантах здійснення, експресія біомаркера вимірюється методологіями на основі ELISA або інших аналогічних способів, відомих у даній галузі.

Даний винахід також стосується набору, що включає (i) фармацевтичну композицію, яка містить 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон або його енантіомер або суміш його енантіомерів або його фармацевтично прийнятну сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф; і (ii) фармацевтичну композицію, що містить гематопоетичний фактор росту, цитокін, протираковий засіб, антибіотик, інгібітор сох-2, імуномодуючий засіб, імуносупресивний засіб, кортикостероїд або його фармакологічно активний мутант або похідне, або їх комбінацію.

В одному варіанті здійснення, даний винахід стосується набору, який включає: (i) фармацевтичну композицію, що містить 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон або його енантіомер або суміш його енантіомерів або його фармацевтично прийнятну сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф; і (ii) фармацевтичну композицію, яка містить облімерсен, мелфалан, G-CSF, GM-CSF, EPO, інгібітор сох-2, топотекан, пентоксифілін, таксотере, іритотекан, ципрофлоксацин, дексаметазон, доксорубіцин, вінкрестин, IL 2, IFN, дакарбазин, Ага-С, вінорелбін або ізотретинон.

В іншому варіанті здійснення, даний винахід стосується набору, що включає: (i) фармацевтичну композицію, що містить 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон або його енантіомер або суміш його енантіомерів або його фармацевтично прийнятну сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф; і (ii) кров з пупкового канатика, плацентарну кров, стовбурові клітини периферичної крові, препарат гематопоетичних стовбурових клітин периферичної крові або кісткового мозку.

4. Короткий опис креслень

Фіг. з 1А по 1D: інгібіторний ефект 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону (сполука формули I) на активність NFκB у клітинах DLBCL.

Фіг. 2: Антипроліферативний ефект 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону (сполука формули I) в аналізі in vitro на основі клітин DLBCL.

Фіг. 3: 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон (сполука формули I) спільно стимулює Т клітини й підвищує продукцію цитокінів.

Фіг. 4: Антиангіогенний ефект 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону в аналізі *in vitro* експлантата людського пупкового канатика.

5 Фіг. 5A і 5B: Антипроліферативний ефект 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону в аналізі *in vitro* на основі клітин множинної мієломи (MM).

Фіг. 6: Інгібування пухлини *in vitro* під дією антипроліферативного ефекту 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону на моделі ксенотрансплантата N929.

10 Фіг. 7A-7C: Експресія цереблону модулює ефекти 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону на лінії клітин ABC-DLBCL.

Фіг. 8: Нокаут CRBN усуває зупинку G1, викликану 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном.

Фіг. 9: Нокаут CRBN усуває ефект 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону на фосфорилування pRb і IRF-4 у клітинах N929.

15 Фіг. 10: Антипроліферативна активність 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону інгібується в чутливих до CRBN клітинах мієломи.

Фіг. 11: Експресія цереблону модулює антиінвазивну активність 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону.

20 Фіг. 12A-12I: 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон інгібує викликану гіпоксією експресію HIF1-α у лініях клітин солідних пухлин.

Фіг. 13A і 13B: 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон інгібує утворення колонії клітин раку молочної залози.

Фіг. 14: 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон інгібує ріст пухлинних клітин гліобластоми U87.

25 5. Докладний опис винаходу

Даний винахід стосується способів лікування, ведення пацієнтів або попередження раку, які включають введення потребуючому такого лікування, ведення або попередження пацієнту терапевтично або профілактично ефективної кількості 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону або його енантіомеру або суміші енантіомерів або його фармацевтично прийнятної солі, сольовату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу у вигляді окремого засобу або у вигляді частини комбінованого лікування.

30 У певних варіантах здійснення, 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон або його енантіомер або суміш енантіомерів або його фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться в комбінації з одним або декількома додатковими лікарськими засобами (або "другими активними засобами") для застосування при лікуванні, веденні пацієнтів або попередженні раку. Другі активні засоби включають дрібні молекули й великі молекули (наприклад, білки й антитіла), деякі приклади яких наведені в даному описі, а також стовбурові клітини. Способи або види лікування, які можуть застосовуватися в комбінації із уведенням сполуки за даним винаходом, включають без обмеження хірургічне лікування, переливання крові, імунотерапію, біологічну терапію, променеву терапію й інші види не медикаментозного лікування, застосовувані в цей час для лікування, попередження й ведення пацієнтів, які страждають на рак. У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом може застосовуватися як вакцинний ад'юванта.

45 У деяких варіантах здійснення, способи за даним винаходом основані частково на відкритті того, що експресовані певні гени або білки, пов'язані з певними раковими клітинами, можуть використовуватися як біомаркери для вказівки на ефективність або хід лікування захворювання. Такі форми раку включають без обмеження лімфому, неходжкінську лімфому, множинну мієлому, лейкоз, гострий мієлоїдний лейкоз (AML) і солідні пухлини. У певних варіантах здійснення, злоякісне захворювання стосується активованого В-клітинного фенотипу при неходжкінській лімфомі. Зокрема, ці біомаркери можуть застосовуватися для прогнозування, оцінки й простежування ефективності лікування пацієнтів 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном.

50 У деяких варіантах здійснення, способи за даним винаходом частково основані на відкритті того, що цереблон (CRBN) пов'язаний з видами антипроліферативної активності певних лікарських засобів, таких як 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон. У деяких варіантах здійснення, CRBN може застосовуватися як біомаркер для вказівки на ефективність або успіхи лікування захворювання 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. Без обмеження конкретною теорією, зв'язування CRBN може вносити внесок або навіть вимагатися для антипроліферативної або інших видів активності певних сполук, таких як 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон.

Без обмеження конкретною теорією, 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон може опосередковувати інгібування росту, апоптоз і інгібування ангіогенних факторів при певних типах раку, таких як лімфома, неходжкінська лімфома, множинна мієлома, лейкоз, AML і солідні пухлини. Після дослідження експресії декількох пов'язаних з раком генів у декількох типах клітин до й після обробки 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном, було виявлено, що рівні експресії декількох пов'язаних з раком генів або білків можуть використовуватися як біомаркери для прогнозування й моніторингу способів лікування раку.

Було також виявлено, що рівень активності NF-κB підвищений у клітинах активованого В-клітинного фенотипу при неходжкінській лімфомі, що стосується інших клітин лімфоми, і що такі клітини можуть бути чутливі до обробки 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. Це свідчить про те, що вихідна активність NF-κB у клітинах лімфоми може являти собою прогностичний біомаркер для лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном у пацієнтів з неходжкінською лімфомою.

Тому, у певних варіантах здійснення, даний винахід стосується способів прогнозування ефективності лікування пухлини в пацієнта з неходжкінською лімфомою. В одному варіанті здійснення, даний винахід стосується способу прогнозування ефективності лікування пухлини в пацієнта з неходжкінською лімфомою, причому спосіб включає одержання пухлинної тканини в пацієнта, очищення білка або РНК із пухлини й визначення присутності або відсутності біомаркера, наприклад, аналізом експресії білків або генів. Експресія, яка піддається моніторингу, може являти собою, наприклад, експресію мРНК або експресію білка. У певних варіантах здійснення, біомаркер являє собою ген, пов'язаний з активованим В-клітинним фенотипом DLBCL. Гени вибираються із групи, яка складається з IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 і BLIMP/PDRM1. В одному варіанті здійснення, біомаркер являє собою NF-κB.

В іншому варіанті здійснення, спосіб включає одержання пухлинних клітин у пацієнта, культивування клітин у присутності або під час відсутності 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону, очищення РНК або білка з культивованих клітин і визначення присутності або відсутності біомаркера, наприклад, аналізом експресії генів або білків.

У певних варіантах здійснення, присутність або відсутність біомаркера визначається кількісною ПЛР у реальному часі (QRT-PCR), мікрочипом, протоковою цитометрією або імунофлуоресценцією. В інших варіантах здійснення, присутність або відсутність біомаркера визначається методологіями на основі ELISA або інших аналогічних способів, відомих у даній галузі.

Способи за даним винаходом включають способи скринінгу або ідентифікації страждаючих на рак пацієнтів, наприклад, пацієнтів з неходжкінською лімфомою, для лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. Зокрема, даний винахід стосується способів відбору пацієнтів, що мають, або, що ймовірно мають більш високу частоту ефективності лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном.

В одному варіанті здійснення, спосіб включає ідентифікацію пацієнтів із імовірною ефективністю лікування одержанням пухлинних клітин у пацієнта, культивування клітин у присутності або під час відсутності 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону, очищення РНК або білка з культивованих клітин і визначення присутності або відсутності специфічного біомаркера. Експресія, яка піддається моніторингу, може являти собою, наприклад, експресію мРНК або експресію білка. Експресія в обробленому зразку може збільшуватися або в деяких випадках зменшуватися, наприклад, приблизно в 1,5, 2,0, 3, 5 або більше разів. У певних варіантах здійснення, біомаркер являє собою ген, пов'язаний з активованим В-клітинним фенотипом. Гени вибрані із групи, яка складається з IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 і BLIMP/PDRM1. В одному варіанті здійснення, біомаркер являє собою NF-κB. Вихідні рівні експресії цих генів можуть бути прогностичними відносно чутливості раку до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном.

В одному варіанті здійснення, експресія IRF4/MUM1 у ракових клітинах, наприклад, клітинах лімфоми підтипу ABC, може бути зменшена лікуванням 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. У деяких варіантах здійснення, інгібуюча регуляція IRF4 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном може являти собою потенційний фармакодинамічний біомаркер.

В іншому варіанті здійснення, даний винахід стосується способу моніторингу ефективності лікування пухлини 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном у пацієнта з лімфомою, неходжкінською лімфомою, множинною мієломою, лейкозом, AML або із солідною пухлиною. Спосіб включає одержання біологічного зразка в пацієнта, вимірювання експресії одного або декількох біомаркерів у біологічному зразку, введення пацієнту 3-(5-аміно-2-метил-4-

оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону, потім, одержання другого біологічного зразка в пацієнта, вимірювання експресії біомаркера в другому біологічному зразку й порівняння рівнів експресії біомаркера, причому підвищений рівень експресії біомаркера після лікування вказує на ймовірність ефективності лікування пухлини. В одному варіанті здійснення, знижений рівень експресії біомаркера після лікування вказує на ймовірність ефективності лікування пухлини. У певних варіантах здійснення, біомаркер являє собою ген, пов'язаний з активованим В-клітинним фенотипом неходжкінської лімфоми. Гени вибрані із групи, яка складається з IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 і BLIMP/PDRM1. В одному варіанті здійснення, біомаркер являє собою NF-κB.

У певних варіантах здійснення, спосіб включає вимірювання експресії одного або декількох генів-біомаркерів, пов'язаних з активованим В-клітинним фенотипом. Гени вибрані із групи, яка складається з IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 і BLIMP/PDRM1. Підлягаюча моніторингу експресія може являти собою, наприклад, експресію мРНК або експресію білка. Експресія в обробленому зразку може збільшуватися, наприклад, приблизно в 1,5, 2,0, 3, 5 або більше разів.

У ще одному варіанті здійснення, винахід стосується способу моніторингу дотримання пацієнтом протоколу медикаментозної терапії. Спосіб включає одержання біологічного зразка в пацієнта, вимірювання рівня експресії щонайменше одного біомаркера в зразку й визначення того, чи збільшений або знижений рівень експресії в зразку, отриманому в пацієнта, у порівнянні з рівнем експресії в контрольному необробленому зразку, причому збільшена або зменшена експресія вказує на дотримання пацієнтом протоколу медикаментозної терапії. В одному варіанті здійснення, експресія одного або декількох біомаркерів збільшується. Підлягаюча моніторингу експресія може являти собою, наприклад, експресію мРНК або експресію білка. Експресія в обробленому зразку може збільшуватися, наприклад, приблизно в 1,5, 2,0, 3, 5 або більше разів. У певних варіантах здійснення, біомаркер являє собою ген, пов'язаний з активованим В-клітинним фенотипом. Гени вибрані із групи, яка складається з IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 і BLIMP/PDRM1. В одному варіанті здійснення, біомаркер являє собою NF-κB.

В іншому варіанті здійснення, винахід стосується способу прогнозування чутливості до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном у пацієнта з лімфоною, неходжкінською лімфоною, множинною мієлоною, лейкозом, AML або солідною пухлиною. В одному варіанті здійснення, пацієнт являє собою пацієнта з неходжкінською лімфоною, зокрема, пацієнта з DLBCL. Спосіб включає одержання біологічного зразка в пацієнта, необов'язково, виділення або очищення мРНК із біологічного зразка, ампліфікацію транскриптом мРНК, наприклад, RT-PCR, причому більш високий вихідний рівень одного або декількох специфічних біомаркерів вказує на більш високу ймовірність того, що ракове захворювання буде чутливо до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. В одному варіанті здійснення, біомаркер являє собою ген, пов'язаний з активованим В-клітинним фенотипом, вибраний із групи, яка складається з IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 і BLIMP/PDRM1.

В іншому варіанті здійснення, спосіб прогнозування чутливості до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном у пацієнта з NHL, наприклад, пацієнта з DLBCL, включає одержання зразка в пацієнта, заливання зразка пухлини в залитий у парафін, фіксований формаліном блок і фарбування зразка антитілами до CD20, CD10, bcl-6, IRF4/MUM1, bcl-2, цикліну D2 і/або FOXP1, як описано у публікації Hans et al, Blood, 2004, 103: 275-282, яка повністю включена в даний опис шляхом посилання. В одному варіанті здійснення, фарбування CD10, bcl-6 і IRF4/MUM-1 може використовуватися для розподілу DLBCL на підгрупи GCB і не-GCB для прогнозування результату.

В одному варіанті здійснення, даний винахід стосується способу прогнозування ефективності лікування пухлини в пацієнта з неходжкінською лімфоною, що включає:

(i) одержання біологічного зразка в пацієнта;

(ii) вимірювання активності шляхи NF-κB у біологічному зразку й

(iii) порівняння рівня активності NF-κB у біологічному зразку з рівнем активності NF-κB біологічного зразка підтипу лімфоми з не активованих В-клітин;

причому збільшений рівень активності NF-κB відносно підтипу лімфоми з не активованих В-клітин вказує на ймовірність ефективності лікування пухлини в пацієнта на лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном.

В одному варіанті здійснення, вимірювання активності шляхи NF-κB у біологічному зразку включає вимірювання рівня NF-κB у біологічному зразку.

В одному варіанті здійснення, даний винахід стосується способу моніторингу ефективності

лікування пухлини в пацієнта з неходжкінською лімфомом, що включає:

- (i) одержання біологічного зразка в пацієнта;
- (ii) вимірювання рівня активності NF-κB у біологічному зразку;
- (iii) введення пацієнту терапевтично ефективної кількості 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону, або його сольвату або гідрату;
- (iv) одержання другого біологічного зразка в пацієнта;
- (v) вимірювання рівня активності NF-κB у другому біологічному зразку; і
- (vi) порівняння рівня активності NF-κB у першому біологічному зразку з рівнем активності NF-κB у другому біологічному зразку;

причому знижений рівень активності NF-κB у другому біологічному зразку відносно першого біологічного зразка вказує на ймовірність ефективності лікування пухлини в пацієнта.

В одному варіанті здійснення, даний винахід стосується способу моніторингу дотримання пацієнтом протоколу медикаментозного лікування, що включає:

- (i) одержання біологічного зразка в пацієнта;
- (ii) вимірювання рівня активності NF-κB у біологічному зразку; і
- (iii) порівняння рівня активності NF-κB у біологічному зразку з контрольним необробленим зразком;

причому знижений рівень активності NF-κB у біологічному зразку відносно контролю вказує на дотримання пацієнтом протоколу медикаментозного лікування.

В одному варіанті здійснення, неходжкінська лімфома являє собою дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому.

В іншому варіанті здійснення, рівень активності NF-κB вимірюється ферментним імуносорбентним аналізом.

В одному варіанті здійснення, даний винахід стосується способу прогнозування ефективності лікування пухлини в пацієнта з неходжкінською лімфомою, що включає:

- (i) одержання біологічного зразка в пацієнта;
- (ii) культивування клітин з біологічного зразка;
- (iii) очищення РНК із культивованих клітин; і
- (iv) ідентифікацію збільшеної експресії гена, пов'язаного з активованим В-клітинним

фенотипом неходжкінської лімфоми відносно контрольного не активованого В-клітинного фенотипу неходжкінської лімфоми;

причому збільшена експресія гена, пов'язаного з активованим В-клітинним фенотипом неходжкінської лімфоми, вказує на ймовірність ефективності лікування пацієнта на лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном.

В одному варіанті здійснення, збільшена експресія являє собою збільшення приблизно в 1,5, 2,0, 3, 5 або більше разів.

В одному варіанті здійснення, ген, пов'язаний з активованим В-клітинним фенотипом, вибраний із групи, яка складається з IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 і BLIMP/PDRM1.

В одному варіанті здійснення, ідентифікація експресії гена, пов'язаного з активованим В-клітинним фенотипом неходжкінської лімфоми, виконується кількісною ПЛР у реальному часі.

Даний винахід також стосується способу лікування або ведення пацієнта з неходжкінською лімфомою, що включає:

- (i) ідентифікацію пацієнта, що має неходжкінську лімфому, чутливу до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном; і
- (ii) введення пацієнту терапевтично ефективної кількості 3-(оксо-4-хіназолін-3-іл)-піперидин-2,6-діону або його фармацевтично прийнятної солі, сольвату або гідрату.

В одному варіанті здійснення, неходжкінська лімфома являє собою дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому.

В іншому варіанті здійснення, неходжкінська лімфома стосується активованого В-клітинного фенотипу.

В іншому варіанті здійснення, дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома характеризується експресією одного або декількох біомаркерів, надекспресованих у клітинних лініях RIVA, U2932, TMD8, OCI-Ly3 або OCI-Ly10.

В іншому варіанті здійснення, дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома характеризується експресією одного або декількох біомаркерів, надекспресованих у клітинних лініях RIVA, U2932, TMD8 або OCI-Ly10.

В одному варіанті здійснення, ідентифікація пацієнта, що має лімфому, чутливу до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном, включає визначення характеристик фенотипу лімфоми пацієнта.

В одному варіанті здійснення, фенотип лімфоми характеризується як активований В-

клітинний підтип.

В одному варіанті здійснення, фенотип лімфоми характеризується як активований В-клітинний підтип дифузної великоклітинної В-клітинної лімфоми.

У певних варіантах здійснення, ідентифікація фенотипу лімфоми включає одержання біологічного зразка в пацієнта, що має лімфому. В одному варіанті здійснення, біологічний зразок являє собою клітинну культуру або зразок тканини. В одному варіанті здійснення, біологічний зразок являє собою зразок пухлинних клітин. В іншому варіанті здійснення, біологічний зразок являє собою біоптат лімфовузла, біоптат кісткового мозку або зразок пухлинних клітин периферичної крові. В одному варіанті здійснення, біологічний зразок являє собою зразок крові.

В одному варіанті здійснення, ідентифікація пацієнта, що має неходжкінську лімфому, чутливу до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном, включає ідентифікацію гена, пов'язаного з активованим В-клітинним фенотипом. В одному варіанті здійснення, ген, пов'язаний з активованим В-клітинним фенотипом, вибраний із групи, яка складається з IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 і BLIMP/PDRM1.

В одному варіанті здійснення, ідентифікація пацієнта, що має неходжкінську лімфому, чутливу до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном, включає вимірювання рівня активності NF-κB у пацієнта. В іншому варіанті здійснення, вимірювання рівня активності NF-κB у пацієнта включає вимірювання рівня вихідної активності NF-κB у пухлинних клітинах, отриманих у пацієнта.

В іншому варіанті здійснення, дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома характеризується однією або декількома з наступних ознак:

(i) надекспресія SPIB, специфічного для гематопоезу сімейства факторів транскрипції Ets, необхідних для виживання клітин активованого В-клітинного підтипу;

(ii) вища конститутивна експресія IRF4/MUM1, ніж в клітинах підтипу GCB;

(iii) вища конститутивна експресія FOXP1, стимульована трисомією 3;

(iv) вища конститутивна експресія Blimp1, тобто, PRDM1; і

(v) вища конститутивна експресія гена CARD11; і

(vi) підвищений рівень активності NF-κB відносно клітин DLBCL не активованого В-клітинного підтипу.

Додаткові прогностичні фактори, які можуть використовуватися одночасно із представленими в даному описі, являють собою прогностичні фактори: тяжкість захворювання (пухлини), абсолютне число лімфоцитів (ALC), час, який пройшов від останнього лікування ритуксимабом із приводу лімфом, або всі зазначені вище фактори.

Даний винахід також стосується способу відбору групи пацієнтів, які страждають на рак, на основі рівня експресії CRBN або рівнів експресії DDB1, DDB2, IRF4 або NFκB у межах даної форми раку з метою прогнозування клінічної ефективності лікування, моніторингу клінічної ефективності лікування або моніторингу дотримання пацієнтом схеми введення 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону, його стереоізомера або його фармацевтично прийнятної солі, сольову, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу; причому пацієнти, які страждають на рак, вибрані з пацієнтів із множинною мієломою, неходжкінською лімфомою, дифузною великоклітинною В-клітинною лімфомою, меланою й солідними пухлинами. Вихідні рівні експресії цих генів можуть прогнозувати чутливість раку до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном.

В одному варіанті здійснення, експресія IRF4/MUM1 у ракових клітинах, наприклад, лімфоми підтипу ABC, може бути зменшена лікуванням 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. У деяких варіантах здійснення, пригнічуюча регуляція IRF4 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном може являти собою потенційний фармакодинамічний біомаркер.

В одному варіанті здійснення пацієнти, які страждають на рак, являють собою пацієнтів із множинною мієломою.

В одному варіанті здійснення пацієнти, які страждають на рак, являють собою пацієнтів з неходжкінською лімфомою.

В одному варіанті здійснення, спосіб відбору групи страждаючих на рак пацієнтів оснований на рівні експресії DDB1 у межах даної форми раку.

В одному варіанті здійснення, спосіб відбору групи страждаючих на рак пацієнтів оснований на рівні експресії DDB2 у межах даної форми раку.

В одному варіанті здійснення, спосіб відбору групи страждаючих на рак пацієнтів оснований на рівні експресії IRF4 у межах даної форми раку.

В одному варіанті здійснення, спосіб відбору групи страждаючих на рак пацієнтів оснований

на рівні експресії NFκB у межах даної форми раку.

В іншому варіанті здійснення, спосіб включає відбір групи страждаючих на рак пацієнтів, що реагують на лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном, його стереоізомером або його фармацевтично прийнятною сіллю, сольватом, гідратом, співкристалом, клатратом або поліморфом, на основі рівня експресії CRBN або рівнів експресії DDB1, DDB2, IRF4 або NFκB усередині Т клітин пацієнта, В клітин або плазматичних клітин, з метою прогнозування клінічної ефективності лікування, моніторингу клінічної ефективності лікування або моніторингу дотримання пацієнтом схеми введення 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону, його стереоізомера або його фармацевтично прийнятної солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу.

В одному варіанті здійснення пацієнти, які страждають на рак, вибрані з пацієнтів із множинною мієломою, неходжкінською лімфомою, дифузною великоклітинною В-клітинною лімфомою, меланою й солідними пухлинами.

Даний винахід також стосується способів лікування раку, наприклад, лімфоми, неходжкінської лімфоми, множинної мієломи, лейкозу, гострого мієлоїдного лейкозу (AML) і солідних пухлин, які приводять до збільшення загального виживання пацієнтів. У деяких варіантах здійснення, збільшення загального виживання пацієнтів спостерігається в популяції пацієнтів, чутливій до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. У деяких варіантах здійснення, популяція пацієнтів, чутлива до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном, характеризується одним або декількома біомаркерами, зазначеними в даному описі.

В інших варіантах здійснення, даний винахід стосується способів лікування раку, наприклад, лімфоми, неходжкінської лімфоми, множинної мієломи, лейкозу, гострого мієлоїдного лейкозу (AML) і солідних пухлин, які приводять до виживання пацієнта без захворювання. У деяких варіантах здійснення, виживання пацієнтів без захворювання спостерігається в популяції пацієнтів, чутливих до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. У деяких варіантах здійснення, популяція пацієнтів, чутливих до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном, характеризується одним або декількома біомаркерами, зазначеними в даному описі.

В інших варіантах здійснення, даний винахід стосується способів лікування раку, наприклад, лімфоми, неходжкінської лімфоми, множинної мієломи, лейкозу, гострого мієлоїдного лейкозу (AML) і солідних пухлин, які приводять до збільшення частоти об'єктивної ефективності лікування в популяції пацієнтів. У деяких варіантах здійснення, виживання пацієнтів без захворювання спостерігається в популяції пацієнтів, чутливих до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. У деяких варіантах здійснення, популяція пацієнтів, чутливих до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном, характеризується одним або декількома біомаркерами, зазначеними в даному описі.

В інших варіантах здійснення, даний винахід стосується способів лікування раку, наприклад, лімфоми, неходжкінської лімфоми, множинної мієломи, лейкозу, гострого мієлоїдного лейкозу (AML) і солідних пухлин, які приводять до збільшення часу до прогресування або до виживання пацієнтів без прогресування захворювання. У деяких варіантах здійснення, збільшення часу до прогресування або до виживання пацієнтів без прогресування захворювання спостерігається в популяції пацієнтів, чутливих до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. У деяких варіантах здійснення, популяція пацієнтів, чутливих до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном, характеризується одним або декількома біомаркерами, зазначеними в даному описі.

Даний винахід також стосується наборів, використовуваних для прогнозування ймовірності ефективного лікування лімфоми, неходжкінської лімфоми, множинної мієломи, лейкозу. AML або солідної пухлини 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. Набір включає тверду підкладку й засіб для виявлення експресії біомаркера в біологічному зразку. У такому наборі може використовуватися, наприклад, індикаторна смужка, мембрана, чип, диск, тестуюча смужка, фільтр, мікросфера, предметне скло, багатоямковий планшет або оптичне волокно. Тверда підкладка набору може являти собою, наприклад, пластик, силікон, метал, смола, скло, мембрану, частинку, осад, гель, полімер, листок, сферу, полісахарид, капіляр, плівку, пластину або предметне скло. Біологічний зразок може являти собою, наприклад, клітинну культуру, лінію клітин, тканина, тканина ротової порожнини, тканина шлунково-кишкового тракту, орган, органелу, біологічну рідину, зразок крові, зразок сечі або зразок шкіри. Біологічний зразок може являти собою, наприклад, біоптат лімфовузла, біоптат кісткового мозку або зразок пухлинних клітин периферичної крові.

В одному варіанті здійснення, набір включає тверду підкладку, нуклеїнові кислоти, що

контактують із підкладкою, причому нуклеїнові кислоти комплементарні щонайменше 20, 50, 100, 200, 350 або більше основам мРНК гена, пов'язаного з активованим В-клітинним фенотипом при NHL, і засіб для виявлення експресії мРНК у біологічному зразку. В одному варіанті здійснення, ген, пов'язаний з активованим В-клітинним фенотипом, вибраний із групи, яка складається з IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 і BLIMP/PDRM1.

В одному варіанті здійснення, винахід стосується набору, який використовується для прогнозування ймовірності ефективного лікування лімфоми, неходжкінської лімфоми, множинної мієломи, лейкозу, AML або солідної пухлини або для моніторингу ефективності лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном. Набір включає тверду підкладку й засіб для виявлення експресії NF-κB у біологічному зразку. В одному варіанті здійснення, біологічний зразок являє собою культуру клітин або зразок тканини. В одному варіанті здійснення, біологічний зразок являє собою зразок пухлинних клітин. В іншому варіанті здійснення, біологічний зразок являє собою біоптат лімфовузла, біоптат кісткового мозку або зразок пухлинних клітин периферичної крові. В одному варіанті здійснення, біологічний зразок являє собою зразок крові. В одному варіанті здійснення, NHL являє собою DLBCL.

У певних варіантах здійснення, у наборах за даним винаходом використовується засіб для виявлення експресії біомаркера кількісної ПЛР у реальному часі (QT-PCR), мікрочип, протокову цитометрію або імунофлуоресценцію. В інших варіантах здійснення, експресія біомаркера вимірюється методологіями на основі ELISA або іншими аналогічними способами, відомими в даній галузі. Додаткові методи визначення експресії мРНК і білка можуть використовуватися у зв'язку зі способами й наборами за даним винаходом, наприклад, способи гібридизація CDNA і цитометричного аналізу на основі флуоресценції мікрочастинок.

В одному варіанті здійснення, даний винахід стосується набору прогнозування ефективності лікування пухлини 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном у страждаючого на неходжкінську лімфому пацієнта, що включає:

(i) тверду підкладку й

(ii) засіб для виявлення експресії біомаркера активованого В-клітинного фенотипу неходжкінської лімфоми в біологічному зразку.

В одному варіанті здійснення, біомаркер являє собою NF-κB.

В одному варіанті здійснення, біомаркер являє собою ген, пов'язаний з активованим В-клітинним фенотипом, і вибраний із групи, яка складається з IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 і BLIMP/PDRM1.

У певних способах за винаходом, 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон уводиться в комбінації з терапією, звичайно застосовуваною для лікування, попередження або ведення пацієнтів, які страждають на рак. Приклади таких звичайних способів терапії включають без обмеження хірургічне лікування, хіміотерапію, променеву терапію, гормональну терапію, біологічну терапію й імунотерапію.

Даний винахід також стосується фармацевтичних композицій, окремих стандартних лікарських форм, схем введення й наборам, які містять 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон або його фармацевтично прийнятну сіль, сольват, гідрат, стереоізомер, клатрат або проліки й другий або додатковий активний засіб. Другі активні засоби включають певні комбінації або "коктейлі" лікарських засобів.

У деяких варіантах здійснення, способи лікування, попередження і/або ведення страждаючих на лімфоми пацієнтів за даним винаходом можуть застосовуватися в пацієнтів, які не реагували на стандартне лікування. В одному варіанті здійснення, лімфома є рецидивуючою, рефракторною або стійкою до звичайної терапії.

В інших варіантах здійснення, способи лікування, попередження і/або ведення страждаючих лімфомами пацієнтів за даним винаходом можуть застосовуватися при лікуванні інтактних пацієнтів, тобто, пацієнтів, які ще не одержували лікування.

У певних варіантах здійснення, 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон або його енантіомер або суміш енантіомерів, або його фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться в комбінації або по черзі з терапевтично ефективною кількістю одного або декількох додаткових активних засобів. Другі активні засоби включають дрібні молекули й великі молекули (наприклад, білки й антитіла), приклади яких наведені в даному описі, а також стовбурові клітини. Способи лікування, які можна застосовувати в комбінації із введенням сполуки за даним винаходом, включають без обмеження хірургічне лікування, переливання крові, імунотерапію, біологічну терапію, променеву терапію й інші види лікування, не основані на медикаментозних засобах, застосовувані в цей час для лікування, попередження або ведення пацієнтів із захворюваннями й станами, пов'язаними з небажаним ангіогенезом, або які характеризуються ним.

В одному варіанті здійснення, додатковий активний засіб вибраний із групи, яка складається з алкілюючого агента, глюкокортикоїду, інгібітору кінази, інгібітору SYK, інгібітору PDE3, інгібітору PDE7, доксорубіцину, хлорамбуцилу, вінкристину, бендамустину, форсколіну, ритуксимабу або їх комбінації.

5 В одному варіанті здійснення, додатковий активний засіб являє собою ритуксимаб.

В одному варіанті здійснення, глюкокортикоїд являє собою гідрокортизон або дексаметазон.

В одному варіанті здійснення, 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон уводиться в кількості від приблизно 5 до приблизно 50 мг на день.

10 В одному варіанті здійснення, 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон уводиться в кількості від приблизно 5 до приблизно 25 мг на день.

В іншому варіанті здійснення, 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон уводиться в кількості приблизно 5, 10, 15, 25, 30 або 50 мг на день.

В іншому варіанті здійснення, на день уводиться 10 або 25 мг 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону.

15 В одному варіанті здійснення, 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон уводиться двічі на день.

Даний винахід стосується фармацевтичних композицій (наприклад, окремих стандартних лікарських форм), які можуть застосовуватися в способах, описаних у даній заявці. У певних варіантах здійснення, фармацевтичні композиції містять 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон або його енантіомер, або суміш його енантіомерів, або його фармацевтично прийнятну сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф, і другий активний засіб.

20 В одному варіанті здійснення, 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон уводиться перорально.

25 В одному варіанті здійснення, 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон уводиться в капсулі або в таблетці.

В одному варіанті здійснення, 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон уводиться протягом 21 дня з наступними сьома днями відпочинку в 28-денному циклі.

5.1 Визначення

30 Для полегшення розуміння представленого описі, нижче визначаються ряд термінів.

Термін "індивід" або "пацієнт" стосується тварини, включаючи без обмеження ссавця, включаючи примата (наприклад, людину), корову, вівцю, козу, коня, собаку, кішку, кролика, щура або мишу. Терміни "індивід" і "пацієнт" використовуються в даному описі взаємозамінно при посиленні, наприклад, на ссавця індивіда, такого як людина.

35 Використовуваний у даному описі й поки немає інших визначень, термін "лікувати", "лікування" і "обробка" стосуються усунення або полегшення протікання захворювання або розладу або одного або декількох симптомів, пов'язаних із захворюванням або розладом. У певних варіантах здійснення, ці терміни стосуються мінімізації поширення або посилювання захворювання або розладу в результаті введення одного або декількох профілактичних або терапевтичних засобів пацієнту з таким захворюванням або розладом. У деяких варіантах здійснення, ці терміни стосуються введення сполуки за даним винаходом з іншими додатковим активним засобом або без нього після появи симптомів конкретного захворювання.

40 Використовувані в даному описі й поки немає інших визначень, терміни "запобігти", "запобігання" і "профілактика" стосуються запобігання початку, рецидиву або поширення захворювання або розладу або одного або декількох його симптомів. У певних варіантах здійснення, ці терміни стосуються лікування із застосуванням або до введення сполуки за винаходом, з додатковою активною сполукою або без неї, перед початком симптомів, зокрема, пацієнтам з ризиком захворювань або розладів, описаних у даній заявці. Ці терміни включають інгібування або зменшення симптому конкретного захворювання. У певних варіантах здійснення, пацієнти із сімейним анамнезом захворювання є, зокрема, претендентами на проведення схем профілактичного лікування. Крім того, пацієнти, у яких в анамнезі є рецидив симптомів, також є потенційними претендентами на профілактику. Відносно цього, термін "профілактика" може взаємозамінно використовуватися з терміном "профілактичне лікування".

45 Використовувані в даному описі й поки немає інших визначень, терміни "вести пацієнта із захворюванням або розладом" і "ведення пацієнта із захворюванням або розладом" стосуються запобігання або вповільнення прогресування, поширення й посилювання захворювання або розладу або одного або декількох його симптомів. Часто, сприятливий ефект, які впливають на пацієнта в результаті застосування профілактичного і/або терапевтичного засобу, не приводять до лікування захворювання або розладу. Відносно цього, термін "ведення пацієнта із захворюванням або розладом" включає лікування пацієнта, який страждав на конкретне

захворювання, зі спробою запобігання або мінімізації рецидиву захворювання, або подовження часу, протягом якого триває ремісія захворювання або розладу.

Використовуваний у даному описі й поки немає інших визначень, термін "терапевтично ефективна кількість" сполуки являє собою кількість, достатню для забезпечення терапевтичного ефекту при лікуванні або веденні пацієнта із захворюванням або розладом, або для затримки або мінімізації одного або декількох симптомів, пов'язаних із захворюванням або розладом. Терапевтично ефективна кількість сполуки означає кількість терапевтичного засобу, окремо або в комбінації з іншими способами лікування, яка забезпечує терапевтичний сприятливий ефект при веденні пацієнта із захворюванням або розладом. Термін "терапевтично ефективна кількість" може включати деяку кількість, яка поліпшує лікування в цілому, зменшує або усуває симптоми або причини захворювання або розладу або підвищує терапевтичну ефективність іншого терапевтичного засобу.

Використовуваний у даному описі й поки немає інших визначень, термін "профілактично ефективна кількість" сполуки позначає кількість, достатню для запобігання захворювання або розладу або запобігання його рецидиву. Профілактично ефективна кількість сполуки означає кількість терапевтичного засобу, окремо або в комбінації з іншими засобами, яка забезпечує профілактичний сприятливий ефект при профілактиці захворювання. Термін "профілактично ефективна кількість" може включати кількість, яка поліпшує профілактику в цілому, або підвищує профілактичну ефективність іншого профілактичного засобу.

Термін "фармацевтично прийнятний носій", "фармацевтично прийнятний ексципієнт", "фізіологічно прийнятний носій" або "фізіологічно прийнятний ексципієнт" стосується фармацевтично прийнятного матеріалу, композиції або основи, такої як рідкий або твердий наповнювач, розріджувач, ексципієнт або інкапсулюючий матеріал. В одному варіанті здійснення, кожний компонент є "фармацевтично прийнятним" у значенні сумісності з іншими інгредієнтами фармацевтичної препаративної форми й придатним для застосування в контакт з тканиною або органом людей або тварин, без надлишкової токсичності, подразнення, алергійної реакції, імуногенності або інших проблем або ускладнень, що відповідає доцільному відношенню вигоди/ризиків. Див. посібники Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005; Handbook of Pharmaceutical Excipients, 5th Edition; Rowe et al. Eds., The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2005; i Handbook of Pharmaceutical Additives, 3rd Edition; Ash and Ash Eds., Gower Publishing Company: 2007; Pharmaceutical Preformulation and Formulation, Gibson Ed., CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2004).

Використовуваний у даному описі термін "пухлина" стосується всього неопластичного клітинного росту й проліферації, злоякісного або доброякісного, і всіх передракових і ракових клітин і тканин.

Використовуваний у даному описі термін "неопластичний" стосується будь-якої форми злоякісного або доброякісного клітинного росту при його порушеній або відсутній регуляції, що приводить до патологічного росту тканини. Таким чином, "неопластичні клітини" включають злоякісні й доброякісні клітини, що мають клітинний ріст при його порушеній або відсутній регуляції.

Термін "рецидивуючий" стосується ситуації, коли в індивіда або ссавця, у якого була ремісія раку після лікування, є повернення ракових клітин.

Використовуваний у даному описі термін "ефективність лікування пухлини в пацієнта" стосується будь-якого збільшення сприятливого терапевтичного ефекту для пацієнта. "Ефективність лікування пухлини в пацієнта" може являти собою, наприклад, зменшення на 5 %, 10 %, 25 %, 50 % або 100 % фізикальних симптомів раку. "Ефективність лікування пухлини в пацієнта" може також являти собою, наприклад, збільшення на 5 %, 10 %, 25 %, 50 %, 100 %, 200 % ефективності лікування пацієнта, за даними вимірювання будь-яким придатним засобом, таким як експресія гена, кількість клітин, результати кількісного аналізу і т. д.

Термін "імовірність" у цілому стосується збільшення ймовірності явища. Термін "імовірність" при використанні відносно ефективності лікування пухлини в пацієнта в цілому передбачає збільшену ймовірність того, що частота прогресування пухлини або росту пухлинних клітин знизиться. Термін "імовірність" при використанні відносно ефективності лікування пухлини в пацієнта може також у цілому означати збільшення індикаторів, таких як експресія мРНК або білка, які можуть свідчити про збільшення успіху в лікуванні пухлини.

Термін "прогнозувати" у цілому означає визначити або повідомити заздалегідь. При використанні, наприклад, для "прогнозування" ефективності лікування раку, термін "прогнозувати" може означати, що ймовірність результату лікування раку можна визначити на початковому етапі, перед тим як лікування почалося, або перед тим як період лікування суттєво

просунувся.

Використовуваний у даному описі термін "контролювати" у цілому стосується моніторингу, спостереження, регулювання, простежування, спостереження або нагляду над діяльністю. Наприклад, термін "моніторинг ефективності сполуки" стосується простежування ефективності при лікуванні раку в пацієнта або в культурі пухлинних клітин. Аналогічним чином, термін "моніторинг" при використанні у зв'язку з дотриманням пацієнтом запропонованого лікування або індивідуально, або в клінічному випробуванні, стосується простежування або підтвердження того, що пацієнт дійсно приймає тестовану імуномодуляторну сполуку відповідно до призначення. Моніторинг може виконуватися, наприклад, спостереженням за експресією мРНК або білковими біомаркерами.

Ефект лікування раку або пов'язаного з ним захворювання може характеризуватися як повна або часткова ефективність лікування. "Повна ефективність лікування" стосується відсутності захворювання, що клінічно виявляється, з нормалізацією будь-яких раніше патологічних даних рентгенологічних досліджень, досліджень кісткового мозку й спинномозкової рідини (CSF) або даних досліджень білка, що відхиляються від норми. "Часткова ефективність лікування" стосується зменшення щонайменше приблизно на 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % або 90 % усього вимірюваного пухлинного навантаження (тобто, числа злоскісних клітин, які присутні в індивіда, або вимірюваного об'єму пухлинних утворень або кількості патологічного моноклонального білка) під час відсутності нових уражень. Термін "лікування" передбачає й повну, і часткову його ефективність.

Термін "рефракторний або стійкий" стосується обставини, коли в індивіда або ссавця, навіть після інвазивного лікування, в організмі є залишкові ракові клітини.

Термін "лікарська стійкість" стосується стану, коли захворювання не реагує на лікування лікарським засобом або лікарськими засобами. Лікарська стійкість може бути або ендегенною, і це значить, що захворювання ніколи не реагувало на лікування лікарським засобом або лікарськими засобами, або вона може бути набутою, і це значить, що захворювання перестало реагувати на лікування лікарським засобом або лікарськими засобами, на яке захворювання раніше реагувало. У певних варіантах здійснення, лікарська стійкість є ендегенною. У певних варіантах здійснення, лікарська стійкість є набутою.

Термін "чутливість" і "чутливе" при посиленні на лікування сполукою являє собою відносний термін, який стосується ступеня ефективності сполуки відносно зниження або зменшення прогресування пухлини, яка піддається лікуванню, або захворювання. Наприклад, термін "підвищена чутливість" при використанні з посиленням на обробку клітини або пухлини у зв'язку зі сполукою стосується підвищення ефективності лікування пухлини щонайменше на 5 % або більше.

Термін "експресований" або "експресія", використовуваний у даному описі, стосується транскрипції з гена для одержання молекули нуклеїнової кислоти РНК щонайменше частково комплементарної області однієї із двох ниток нуклеїнової кислоти гена. Термін "експресований" або "експресія", використовуваний у даному описі, стосується трансляції з молекули РНК для одержання білка, поліпептиду або їх частини.

Вміст мРНК, яка піддана "підвищувальній регуляції", у цілому збільшується після даного лікування або стану. мРНК, яка піддана "знижувальній регуляції", у цілому стосується зменшення рівня експресії мРНК у відповідь на дане лікування або стан. У деяких ситуаціях рівень мРНК може залишатися незмінним після даного лікування або стану.

мРНК зі зразка, отриманого в пацієнта, може бути піддана "підвищувальній регуляції" при обробці імуномодуляторною сполукою, у порівнянні з необробленим контролем. Ця підвищувальна регуляція може являти собою, наприклад, збільшення приблизно на 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 90 %, 100 %, 200 %, 300 %, 500 %, 1000 %, 5000 % або більше рівня порівняльної контрольної мРНК.

Альтернативно, мРНК може піддаватися "знижувальній регуляції" або експресована на більш низькому рівні у відповідь на введення певних імуномодуляторних сполук або інших засобів. Піддана "знижувальній регуляції" мРНК може, наприклад, бути присутньою на рівні, що становить приблизно 99 %, 95 %, 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 10 %, 1 % або менше порівняльного контрольного рівня мРНК.

Аналогічним чином, рівень поліпептидного або білкового біомаркера зі зразка пацієнта може бути збільшений при обробці імуномодуляторною сполукою, у порівнянні з необробленим контролем. Це збільшення може становити приблизно 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 90 %, 100 %, 200 %, 300 %, 500 %, 1000 %, 5000 % або більше рівня порівняльного контрольного білка.

Альтернативно, рівень білкового біомаркера може зменшуватися у відповідь на введення

певних імуномодуляторних сполук або інших засобів. Це зменшення може, наприклад, бути присутнім на рівні приблизно 99 %, 95 %, 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 10 %, 1 % або менше рівня порівняльного контрольного білка.

Використовувані в даному описі терміни "визначення", "вимірювання", "оцінка" і "кількісний аналіз" у цілому стосуються будь-якої форми вимірювання й включають визначення того, чи присутній елемент чи ні. Ці терміни включають і кількісні, і/або якісні визначення. Оцінка може бути відносною або абсолютною. "Оцінка присутності чого-небудь" може включати визначення присутньої кількості чого-небудь, а також визначення того, чи присутнє воно чи відсутнє.

Використовуваний у даному описі й поки немає інших вказівок термін "фармацевтично прийнятна сіль" включає нетоксичні кислотні- і основно-адитивні солі сполуки, якої стосується термін. Прийнятні нетоксичні кислотні-адитивні солі включають ті, які отримані з органічних і неорганічних кислот, відомих у даній галузі, які включають, наприклад, хлористоводневу кислоту, бромистоводневу кислоту, фосфорну кислоту, сірчану кислоту, метансульфонову кислоту, оцтову кислоту, винну кислоту, молочну кислоту, бурштинову кислоту, лимонну кислоту, яблучну кислоту, малеїнову кислоту, сорбінову кислоту, аконітову кислоту, саліцилову кислоту, фталеву кислоту, емболову кислоту, енантову кислоту й тому подібні.

Сполуки, які є кислотними по природі, здатні утворювати солі з різними фармацевтично прийнятними основами. Основи, які можуть використовуватися для одержання фармацевтично прийнятних основно-адитивних солей таких кислотних сполук, являють собою ті, які утворюють нетоксичні основно-адитивні солі, тобто, солі, що містять фармакологічно прийнятні катіони, такі як без обмеження солі лужних металів або лужноземельних металів і, зокрема, солі кальцію, магнію, натрію або калію. Придатні органічні основи включають без обмеження N, N-дибензилетилендіамін, хлорпрокаїн, холін, діетаноламін, етилендіамін, меглумаїн(N-метилглюкамін), лізин і прокаїн.

Використовуваний у даному описі й поки немає інших вказівок термін "сольват" означає сполуку за даним винаходом або її сіль, яка додатково включає стехіометричну або не стехіометричну кількість розчинника, зв'язаного не ковалентними міжмолекулярними силами. Коли розчинником є вода, то сольват являє собою гідрат.

Використовуваний у даному описі й поки немає інших вказівок термін "проліки" означає похідну сполуки, яка може гідролізуватися, окиснюватися або іншими чином взаємодіяти в біологічних умовах (in vitro або in vivo) для одержання сполуки. Приклади проліків включають без обмеження похідні сполуки формули I за даним винаходом, які містять біогідролізовані частини, такі як біогідролізовані амідні, біогідролізовані складні ефіри, біогідролізовані карбамати, біогідролізовані карбонати, біогідролізовані уреїди й біогідролізовані фосфатні аналоги. Інші приклади проліків включають похідні сполуки формули I за даним винаходом, які містять частини -NO, -NO₂, -ONO або -ONO₂. Проліки можуть бути отримані з використанням таких способів, як описані в посібниках Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff 5th ed. 1995) і Design of Prodrugs (H. Bundgaard ed., Elsevier, New York 1985).

Використовувані в даному описі й поки немає інших вказівок, терміни "біогідролізований амід", "біогідролізований складний ефір", "біогідролізований карбамат", "біогідролізований карбонат", "біогідролізований уреїд" і "біогідролізований фосфат" означають відповідно амід, складний ефір, карбамат, карбонат, уреїд або фосфат сполуки, який або: 1) не втручається в біологічну активність сполуки, але може додати цій сполуці переважних властивостей in vivo, таких як захоплення, тривалість дії або початок дії; або 2) є біологічно неактивним, але перетворюється in vivo у біологічно активну сполуку. Приклади біогідролізованих складних ефірів включають без обмеження нижчі складні алкілові ефіри, нижчі складні ацилоксалкілові ефіри (такі як складні ацетоксиметилловий, ацетоксіетилловий, амінокарбонілоксиметилловий, півалоїлоксиметилловий і півалоїлоксиетилловий ефіри), лактонілові складні ефіри (такі як фталідиловий і тіофталідиловий складні ефіри), нижчі алкоксіацилоксалкілові складні ефіри (такі як метоксикарбонілоксиметилловий, етоксикарбонілоксиметилловий і ізопропоксикарбонілоксиметилловий складні ефіри), алкоксіалкілові складні ефіри, холінові складні ефіри й ациламіноалкілові складні ефіри (такі як ацетамідометилловий складні ефіри). Приклади біогідролізованих амідів включають без обмеження нижчі алкіламіди, амідні α-амінокислот, алкоксіациламіди й алкіламіноалкілкарбоніламіди. Приклади біогідролізованих карбаматів включають без обмеження нижчі алкіламіни, заміщені етилендіаміни, амінокислоти, гідроксикарбоніламіни, гетероциклічні й гетероароматичні аміни й поліефіраміни.

Використовуваний у даному описі й поки немає інших вказівок, термін "стереомерно чиста" означає композицію, яка містить один стереоізомер сполуки й по суті не містить інші стереоізомери сполуки. Наприклад, стереомерно чиста композиція сполуки, що має один

хіральний центр, буде по суті вільна від протилежного енантіомеру сполуки. Стеремерно чиста композиція сполуки, що має два хіральні центри, буде по суті вільна від інших діастереоізомерів сполуки. У певних варіантах здійснення, стеремерно чиста сполука містить більше ніж приблизно 80 % мас. одного стереоізомера сполуки і менше ніж приблизно 20 % мас. інших стереоізомерів сполуки, більш ніж приблизно 90 % мас. одного стереоізомера сполуки і менше ніж приблизно 10 % мас. інших стереоізомерів сполуки, більш ніж приблизно 95 % мас. одного стереоізомера сполуки і менше ніж приблизно 5 % мас. інших стереоізомерів сполуки, або більш ніж приблизно 97 % мас. одного стереоізомера сполуки і менше ніж приблизно 3 % мас. інших стереоізомерів сполуки. Використовуваний у даному описі й поки немає інших вказівок, термін "стеремерно збагачена" означає композицію, яка містить більше ніж приблизно 60 % мас. одного стереоізомера сполуки, більше ніж приблизно 70 % мас. або більше ніж приблизно 80 % мас. одного стереоізомера сполуки. Використовуваний у даному описі й поки немає інших вказівок, термін "енантімерно чиста" означає стеремерно чисту композицію сполуки, що має один хіральний центр. Аналогічно, термін "стеремерно збагачена" означає стеремерно збагачену композицію сполуки, що має один хіральний центр.

Термін "приблизно" або "приблизно" означає прийнятну помилку для конкретної величини, що визначається середнім фахівцем у даній галузі, яка частково залежить від того, як вимірюється або визначається ця величина. У певних варіантах здійснення, термін "приблизно" або "приблизно" означає в межах 1, 2, 3 або 4 стандартних відхилень. У певних варіантах здійснення, термін "приблизно" або "приблизно" означає в межах 50 %, 20 %, 15 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % або 0,05 % даної величини або діапазону.

5.2 Кінцеві точки клінічних випробувань для реєстрації як протиракового лікарського засобу

"Загальне виживання" визначається як час від рандомізації до смерті з будь-якої причини, і воно вимірюється в популяції, яка включена в групу з початково передбачуваним способом лікування. Загальне виживання повинне оцінюватися в рандомізованих контрольованих дослідженнях. Демонстрація статистично значущого збільшення загального виживання може вважатися клінічно значущим, якщо профіль токсичності прийнятний, і цей показник часто підтримував реєстрацію нових лікарських засобів.

Декілька кінцевих точок оснований на оцінці пухлини. Ці кінцеві точки включають виживання без клінічно виражених ознак захворювання (DFS), об'єктивну частоту ефективності лікування (ORR), час до прогресування захворювання (TTP), виживання без прогресування захворювання (PFS) і час до виявлення неефективності лікування (TTF). Збір і аналіз даних по цих залежних від часу кінцевих точках оснований на непрямим оцінках, розрахунках і показниках (наприклад, вимірюваннях пухлин).

У цілому, "виживання без клінічно виражених ознак захворювання" (DFS) визначається як час від рандомізації до рецидиву пухлини або до смерті з будь-якої причини. Хоча загальне виживання являє собою звичайну кінцеву точку для досліджень більшості ад'ювантних засобів, DFS може бути важливою кінцевою точкою в ситуаціях, коли виживання може продовжуватися, роблячи кінцеву точку виживання непрактичною. DFS може бути сурогатною точкою клінічної ефективності, або воно може бути прямим доказом клінічної ефективності. Це визначення основане на величині ефекту, його співвідношенні ризику-вигоди й виді патології. Визначення DFS може бути складним, особливо коли випадки смерті відзначаються без попередньої документації прогресування захворювання. Ці явища можуть оцінюватися в балах або як рецидиви захворювання, або як цензуровані явища. Хоча всі способи статистичного аналізу випадків смерті мають деякі обмеження, урахування усіх випадків смерті (випадків смерті від усіх причин) як рецидивів може мінімізувати погіршність. DFS може переоцінюватися при використанні цього визначення, зокрема, у пацієнтів, які вмирають після тривалого періоду без спостереження. Погіршність може вноситися, якщо частота відвідувань при тривалому спостереженні неоднакова в різних групах досліджуваних пацієнтів, або якщо випадки вибування з дослідження є не випадковими через токсичність.

"Об'єктивна частота ефективності лікування" (ORR) визначається як частка пацієнтів зі зменшенням розміру пухлини на задану величину й протягом мінімального періоду часу. Тривалість ефективності лікування звичайно вимірюється від часу первинного прояву ефективності лікування до документованого прогресування пухлини. У цілому, FDA (Адміністрація харчових продуктів і лікарських засобів США) визначила ORR як суму випадків часткової ефективності лікування плюс випадків повної ефективності лікування. При такому способі визначення, ORR являє собою прямий показник протипухлинної активності лікарського засобу, яку можна оцінити в одnogруповому дослідженні. Для підтвердження ефективності лікування, слід використовувати стандартизовані критерії, якщо вони доступні. Доцільними вважалися різноманітні критерії ефективності лікування (наприклад, критерії RECIST (критерії

оцінки ефективності лікування при солідних пухлинах)) (Therasse et al., (2000) J Natl. Cancer Inst, 92:205-16). Значимість ORR оцінюється по її величині й тривалості, і процентній частці випадків повної ефективності лікування (відсутність виявлених доказів наявності пухлини).

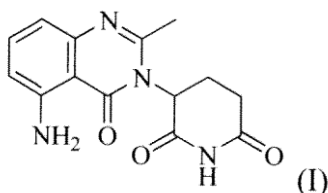
"Час до прогресування захворювання" (TTP) і "виживання без прогресування захворювання" (PFS) служили як первинні кінцеві точки для реєстрації лікарських засобів. TTP визначається як час від рандомізації до об'єктивного прогресування пухлини; TTP не включає випадки смерті. PFS визначається як час від рандомізації до об'єктивного прогресування пухлини або смерті. У порівнянні з TTP, PFS є переважним нормативною кінцевою точкою. PFS включає випадки смерті й, таким чином, може краще корелюватися із загальним виживанням. PFS допускає, що випадки смерті пацієнтів випадково пов'язані із прогресуванням пухлини. Однак у ситуаціях, коли більшість випадків смерті не пов'язані з раком, TTP може являти собою прийнятну кінцеву точку.

Як кінцева точка для обґрунтування реєстрації лікарського засобу, PFS може відбивати ріст пухлини й оцінюватися перед визначенням сприятливого впливу на виживання. Його визначення не спотворюється наступним лікуванням. Для даного розміру зразка величина впливу на PFS може бути більше, ніж вплив на загальне виживання. Однак формальна валідація PFS як сурогату для виживання при багатьох різних існуючих злоякісних захворюваннях може бути важкою. Дані іноді недостатні для забезпечення можливості належної оцінки кореляції між впливами на виживання й PFS. Випробування способів лікування раку часто малі, і кількість доведених сприятливих ефектів на виживання існуючих лікарських засобів у цілому невелике. Роль PFS як кінцевої точки для обґрунтування реєстрації ліцензування варіюється при різних формах раку. Те, чи представляє поліпшення PFS безпосередній клінічний ефект або сурогат для клінічного ефекту, залежить від величини ефекту й ризику-вигоди нового способу лікування, у порівнянні з доступними способами лікування.

"Час до виявлення неефективності лікування" (TTF) визначається як складена кінцева точка, що вимірює час від рандомізації до припинення лікування з будь-якої причини, включаючи прогресування захворювання, токсичність лікування й смерть. TTF не рекомендується як нормативна кінцева точка для реєстрації лікарського засобу. TTF неадекватно диференціює ефективність від цих додаткових параметрів. Нормативна кінцева точка повинна зрозуміло відрізняти ефективність лікарського засобу від токсичності, припинення участі в клінічному випробуванні з причини, пов'язаної з пацієнтом або лікарем або непереносимістю пацієнтом випробуваного лікарського засобу.

5.3 Сполука

Сполука, придатна для застосування в способах за даним винаходом, являє собою 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон, що має структурну формулу I:



або його енантіомер або суміш енантіомерів; або його фармацевтично прийнятну сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф.

Сполука формули I може бути отримана відповідно до способів, описаних в розділі "Приклади", у даному описі, або як описано в патенті США № 7635700, повністю включеному в даний опис шляхом посилання. Ця сполука може бути також синтезована відповідно до способів, очевидних для фахівців у даній галузі, на основі положень даного опису.

Сполука формули I суттєво інгібує TNF- α , IL-1 β і інші запальні цитокіни в стимульованих LPS (ліпополісахаридом) hPBMC (моноклеарних клітинах периферичної крові людини) і в цільній крові людини. TNF- α являє собою запальний цитокін, продукований макрофагами й моноцитами, під час гострого запалення. TNF- α відповідальний за різноманітний діапазон явищ передачі сигналів усередині клітин. TNF- α може відігравати патологічну роль при раку. Без обмеження теорією, одним з біологічних ефектів, надаваних імуномодуляторною сполукою формули I, є зменшення синтезу TNF- α . Імуномодуляторна сполука формули I підсилює руйнування мРНК TNF- α . Сполука формули I також потужно інгібує IL-1 β і стимулює IL-10 у цих умовах.

Крім того, без обмеження теорією, сполука формули I є потужним коstimулятором Т клітин і збільшує клітинну проліферацію тісно залежним чином у відповідних умовах.

У певних варіантах здійснення, без обмеження теорією, біологічні ефекти, надавані

імуномодуляторною сполукою формули I, включають без обмеження антиангіогенні й імуномодулюючі ефекти.

У певних варіантах здійснення, сполука формули I являє собою тверду речовину. У певних варіантах здійснення, сполука формули I є гідрованою. У певних варіантах здійснення, сполука формули I є сольватованою. У певних варіантах здійснення, сполука формули I є безводною. У певних варіантах здійснення, сполука формули I є негігроскопічною.

У певних варіантах здійснення, тверда сполука формули I є аморфною. У певних варіантах здійснення, тверда сполука формули I є кристалічною. У певних варіантах здійснення, тверда сполука формули I презентована в кристалічній формі, описаній в попередній заявці на патент США № 61/451,806, поданій 11 березня 2011 року, яка повністю включена в даний опис шляхом посилання.

Тверді форми сполуки формули I можуть бути отримані відповідно до способів, описаних в описі попередньої заявки на патент США № 61/451,806. Тверді форми можуть бути також отримані відповідно до інших способів, очевидних для фахівців у даній галузі.

У певних варіантах здійснення, сполука формули I являє собою гідрохлорид 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4H-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону або його енантіомер або суміш енантіомерів; або його фармацевтично прийнятний сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф. У певних варіантах здійснення, гідрохлорид є твердим. У певних варіантах здійснення, гідрохлорид є безводним. У певних варіантах здійснення, гідрохлорид є негігроскопічним. У певних варіантах здійснення, гідрохлорид є аморфним. У певних варіантах здійснення, гідрохлорид є не гігроскопічним. У певних варіантах здійснення, гідрохлорид є аморфним. У певних варіантах здійснення, гідрохлорид є кристалічним. У певних варіантах здійснення, гідрохлорид представлений у кристалічній формі A.

Гідрохлорид сполуки формули I і його тверді форми можуть бути отримані відповідно до способів, описаних в описі попередньої заявки на патент США № 61/451,806. Гідрохлорид і його тверді форми можуть бути також отримані відповідно до інших способів, очевидних для фахівців у даній галузі.

Сполука формули I за даним винаходом містить один хіральний центр і може існувати у вигляді суміші енантіомерів, наприклад, рацемічної суміші. Даний опис включає застосування стереомерно чистих форм такої сполуки, а також застосування сумішей цих форм. Наприклад, суміші, що містять однакові або неоднакові кількості енантіомерів сполуки формули I за даним винаходом, можуть застосовуватися в способах і композиціях, описаних у даній заявці. Ці ізомери можуть бути асиметрично синтезовані або розділені з використанням стандартних технологій, таких як хіральні колонки або хіральні розділювальні агенти. Див., наприклад, публікації Jacques, J., et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley-Interscience, New York, 1981); Wilen, S. H., et al, *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, E. I. *Stereochemistry of Carbon Compounds* (Mcgraw-hill, NY, 1962); i Wilen, S. H., *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972).

Слід зазначити, що якщо існує розбіжність між зображеною структурою й назвою, привласненою цій структурі, то перевага віддається зображеній структурі. Крім того, якщо стереохімія структури або частини структури не зазначена, наприклад, жирними або пунктирними лініями, то структуру або частину структури слід трактувати як таку, що як включає всі стереоізомери цієї структури.

5.4. Другі активні засоби

Сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер або суміш енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф може комбінуватися з однією або декількома іншими фармакологічно активними сполуками ("другими активними засобами") у способах і композиціях за даним винаходом. Уважається, що певні комбінації працюють синергічно при лікуванні конкретних типів раку й певних захворюваннях і станах, пов'язаних з небажаним ангіогенезом, або які характеризуються ним. Сполука формули I за даним винаходом може також працювати для полегшення побічних ефектів, пов'язаних з визначеними другими активними засобами, і деякі другі активні засоби можуть застосовуватися для полегшення побічних ефектів, пов'язаних зі сполукою формули I за даним винаходом.

Один або декілька других активних інгредієнтів або засобів можуть застосовуватися в способах і композиціях за даним винаходом зі сполукою формули I за даним винаходом. Другі активні засоби можуть являти собою великі молекули (наприклад, білки) або дрібні молекули (наприклад, синтетичні, неорганічні, металоорганічні або органічні молекули).

Приклади великомолекулярних активних засобів включають без обмеження гематопоетичні фактори росту, цитокіни й моноклональні й поліклональні антитіла. У певних варіантах

здійснення, великомолекулярні активні засоби являють собою біологічні молекули, такі як штучно отримані білки, що природно зустрічаються. Білки, які зокрема можуть використовуватися в даному винаході, включають білки, які стимулюють виживання і/або проліферацію гематopoетичних клітин-попередників і імунологічно активних поетичних клітин *in vitro* або *in vivo*. Інші стимулюють ділення і диференціацію комітованих еритроїдних попередників у клітинах *in vitro* або *in vivo*. Конкретні білки включають без обмеження: інтерлейкіни, такі як IL-2 (включаючи рекомбінантний IL-II ("rIL2") і IL-2 вірусу віспи канарок), IL-10, IL-12 і IL-18; інтерферони, такі як інтерферон альфа-2а, інтерферон альфа-2b, інтерферон альфа-n1, інтерферон альфа-n3, інтерферон бета-1а і інтерферон гама-lb; GM-CSF (фактор, що утворює колонії гранулоцитів-макрофагів) і GM-CSF (фактор, що стимулює колонії гранулоцитів-макрофагів; і EPO (еритропоетин).

Конкретні білки, які можуть застосовуватися в способах і композиціях за винаходом, включають без обмеження: філгастрим, який продається в США під торговельною назвою NEUPOGEN® (Amgen, Thousand Oaks, CA); сарграмостим, який продається в США під торговельною назвою LEUKINE® (Immunex, Seattle, WA); і рекомбінантний EPO, який продається в США під торговельною назвою EPOGEN® (Amgen, Thousand Oaks, CA).

Інгібітори рецепторів ActRII або інгібітори активіну-ActRII можуть використовуватися в способах і композиціях за даним винаходом. Рецептори ActRII включають інгібітори ActRIIA і інгібітори ActRII. Інгібітори рецепторів ActRII можуть являти собою поліпептиди, що містять зв'язуючі активін домени ActRII. У певних варіантах здійснення, зв'язуючий активін домен, що містить поліпептиди, зв'язані із частиною Fc антитіла (тобто, генерується кон'югат, що містить зв'язуючий активін домен, що містить поліпептид рецептора ActRII, і частину Fc антитіла). У певних варіантах здійснення, зв'язуючий активін домен зв'язаний із частиною Fc антитіла через лінкер, наприклад, пептидний лінкер. Приклади таких білків, які не є антитілом, вибраних для зв'язування активіну або ActRIIA, і способи для їхнього конструювання й відбору можна знайти в заявках на Міжнародні патенти WO/2002/088171, WO/2006/055689, WO/2002/032925, WO/2005/037989 і заявках на патенти США US 2003/0133939 і US 2005/0238646, кожна з яких повністю включена в даний опис шляхом посилання.

Рекомбінантні й мутовані форми GM-CSF можуть бути отримані, як описано в патентах США №№ 5391485; 5393870 і 5229496, опис кожного з яких повністю включений в дану заявку шляхом посилання. Рекомбінантні й мутовані форми G-CSF (фактора, що стимулює колонії гранулоцитів) можуть бути отримані, як описано в патентах США №№ 4810643; 4999291; 5528823 і 5580755, опис кожного з яких повністю включений в дану заявку шляхом посилання.

Даний опис включає використання нативних, які природно зустрічаються й рекомбінантних білків. Опис, крім того, включає мутанти й похідні (наприклад, модифіковані форми) білків, що природно зустрічаються, які проявляють *in vivo* щонайменше деяку фармакологічну активність білків, на яких вони основані. Приклади мутантів включають без обмеження білки, які мають один або кілька амінокислотних залишків, які відрізняються від відповідних залишків у формах білків, що природно зустрічаються. Терміном "мутанти" також охоплюються білки, які не мають вуглеводневої частини, яка звичайно присутня у їх формах, що природно зустрічаються (наприклад, негліколізованих формах). Приклади похідних включають без обмеження пегіловані похідні й злиті білки, такі як білки, утворені злиттям IgG1 або IgG3 з білком або активною частиною білка, що представляє інтерес. Див, наприклад, публікацію Penichet, M.L. and Morrison, S.L., J. Immunol. Methods 248:91-101 (2001).

Антитіла, які можуть застосовуватися в комбінації зі сполукою формули I за даним винаходом, включають моноклональні й поліклональні антитіла. Приклади антитіл включають без обмеження трастузумаб (ГЕРЦЕПТИН®), ритуксимаб (РИТУКСАН®), бевацизумаб (АВАСТИН™), пертузумаб (OMN1TARG™), тоситумомаб (BEXXAR®), едреколомаб (ПАНОРЕКС®), панітумумаб і G250. Сполука формули I за даним винаходом може також комбінуватися або застосовуватися в комбінації з антитілами до TNF-α.

Великомолекулярні активні засоби можуть вводитися у формі протиракових вакцин. Наприклад, вакцини, які секретують або викликають секрецію цитокінів, таких як IL-2, SCF, CXCL14 (тромбоцитарний фактор 4), G-CSF і GM-CSF, можуть застосовуватися в способах, фармацевтичних композиціях і наборах за винаходом. Див., наприклад, публікацію Emens, L.A., et al, Curr. Opin. Mol. Ther. 3(1):77-84 (2001).

Другі активні засоби, які являють собою дрібні молекули, також можуть застосовуватися для полегшення побічних ефектів, пов'язаних із введенням сполуки формули I за даним винаходом. Однак вважається, що подібно до деяких великих молекул, вони здатні забезпечити синергічний ефект при введенні зі сполукою формули I (наприклад, перед нею, після неї або одночасно з нею). Приклади дрібномолекулярного другого активного засобу включають без обмеження

протиракові засоби, антибіотики, імуносупресивні засоби й стероїди.

Приклади протиракових засобів включають без обмеження: абраксан; асе-11; ацивіцин; акларубіцин; акодозол гідрохлорид; акронін; адозелесинальдеслейкін; алтретамін; амбоміцин; аметантрон ацетат; амрубіцин; амсакрин; анастрозол; антраміцин; аспрагіназу; асперлін; 5 азацитидин; азетепа; азотоміцин; батимастат; бензодепа; бікалутамід; бісантрен гідрохлорид; біснафід димесилат; бізелесин; блеоміцин сульфат; бреквінар натрію; бропіримін; бусульфан; актиноміцин; калустерон; карацемід; карбетимер; карбоплатин; кармустин; карубіцин гідрохлорид; карзелічин; цедефінгол; целекоксиб (інгібітор COX-2); хлорамбуцил; циролеміцин; цисплатин; кладрибін; криснатол мезилат; циклофосфамід; цитарабін; дакарбазин; 10 дактиноміцин; даунорубіцин гідрохлорид; децитабін; дексормаплатин; дезагуанін; дезагуанін мезилат; діазиквон; доцетаксел; доксорубіцин; доксорубіцин гідрохлорид; дролоксифен; дролоксифен цитрат; дромостанолон пропіонат; дуазоміцин; едатрексат; ефлорнітин гідрохлорид; елсамітруцин; енлоплатин; енпромаст; епіпропідин; епірубіцин гідрохлорид; ербулозол; есорубіцин гідрохлорид; естрамустин; естрамустин фосфат натрію; етанідазол; 15 етопозид; етопозид фосфат; етоприн; фадрозол гідрохлорид; фазарабін; фенретинід; флоксуридин; флударабін фосфат; фторурацил; флуороцитабін; фосквідон; форстриєцин натрію; гемцитабін; гемцитабін гідрохлорид; герцептин; гідроксисечовину; ідарубіцин гідрохлорид; іфосфамід; ілмофозин; іпроплатин; іринотекан; іринотекан гідрохлорид; ланреотид ацетат; лапатиніб; летрозол; лейпролід ацетат; ліарозол гідрохлорид; лометрексол натрію; 20 ломустин; лосоксантрон гідрохлорид; масопрокол; мейтансин; мехлоретамін гідрохлорид; мегестрол ацетат; меленгестрол ацетат; мелфалан; меногарил; меркаптопурин; метотрексат; метотрексат натрію; метоприн; метуредеп; мітиндомід; мітокарцин; мітокромін; мітогліл; мітомалцин; мітоміцин; мітоспер; мітотан; мітоксантрон гідрохлорид; мікофенолову кислоту; нокодазол; ноғаламіцин; ормаплатин; оксисуран; паклітаксел; пегаспаргазу; пеліоміцин; 25 пентамустин; пепломіцин сульфат; перфосфамід; піпоброман; піпосульфат; піроксантрон гідрохлорид; плікаміцин; пломестан; порфімер натрію; порфіроміцин; преднімустин; прокарбазин гідрохлорид; пуроміцин; уроміцин гідрохлорид; піразофуридин; рибоприн; ромідепсин; сафінгол; сафінгол гідрохлорид; семустин; симптразен; спарфосат натрію; спарсоміцин; спірогерманій гідрохлорид; спіромустин; спіроплатин; терапевтичні засоби зі стовбурових клітин, такі як PDA-001; стрептонігрин; стрептозоцин; сулофенур; талісоміцин; текогалан натрію; таксотере; тегафур; телоксантрон гідрохлорид; темопорфін; теніпозид; тероксирон; тестолактон; тіаміприн; тіогуанін; тіотепа; тіазофуридин; тирапазамін; тореміфен цитрат; трестолон ацетат; трицирибін фосфат; триметрексат; триметрексат глюкуронат; трипторелін; тубулозол гідрохлорид; урациліприт; уредеп; вапреотид; вертепорфін; 35 синбластин сульфат; вінкрістин сульфат; віндезин; віндезин сульфат; вінепідин сульфат; вінгліцинат сульфат; вінлейрозин сульфат; вінорелбін тартрат; вінросидин сульфат; вінзолідин сульфат; ворозол; зениплатин; зиностатин і зорубіцин гідрохлорид.

Інші протиракові лікарські засоби включають без обмеження: 20-епі-1,25-дигідроксивітамін D3; 5-етинілурацил; абіратерон; акларубіцин; ацилфульвен; алеципенол; адозелезін; 40 альдеслейкін; антагоністи ALL-TK; алтретамін; амбамустин; амідокс; аміфостин; амінолевулінову кислоту; амрубіцин; амсакрин; анагрелід; анастрозол; андрографолід; інгібітори ангиогенезу; антагоніст D; антагоніст G; антарелікс; анти-дорсалізуючий морфогенний білок-1; антиандроєн, карцинома передміхурової залози; антиестроєн; антинеопластон; антисмислові олігонуклеотиди; афідиколін гліцинат; модулятори генів апоптозу; регулятори апоптозу; апуринову кислоту; ага-CDP-DL-PTBA (1-бета-D-Арабінофуранозилцитозин-5'-дифосфат-рац-1-S-октадецил-2-O-пальмітоїл-1-тіогліцерол); аргініндеаміназу; асулакрин; атаместан; атримустин; аксинастатин 1; аксинастатин 2; аксинастатин 3; азхасетрон; азатоксин; азатирозин; похідні бакатину III; баланол; батимастат; антагоністи онкопротейну BCR/ABL; бензохлорини; бензоїлстауроспорин; похідні бета-лактаму; бета-алетин; бетакламіцин B; 50 бетулінову кислоту; інгібітор b-FGF (основного фактора росту фібробластів); бікалутамід; бісантрен; бісазиридиноїлспермін; біснафід; бістратен А; бізелесин; брефлат; бропіримін; будотитан; бутіонін сульфоксимін; кальципотриол; калфостин С; похідні камптотецину; капєцитабін; карбоксаїд-аміно-триазол; карбоксаїдотриазол; CaRest M3; CARN 700; отриманий із хряща інгібітор; карзелезін; інгібітори казеїнкінази (ICOS); кастаноспермін; 55 цекропін В; цетрорелікс; хлорини; хлорохіноксалін сульфнамід; цикапрост; цисіпорфірин; кладрибін; аналоги кломіфену; клотримазол; колісміцин А; колісміцин В; комбретастатин А4; аналог комбретастатину; конаєнін; країбесцидин 816; криснатол; криптофіцин 8; похідні криптофіцину А; курацин А; циклопентантрахінони; циклоплатам; ципеміцин; цитарабін окфосфат; цитолітичний фактор; цитостатин; даклісимаб; децитабін; дегідродидемнін В; 60 деслорелін; дексаметазон; дексифосфамід; дексразоксан; дексверапаміл; діазиквон; дидемнін

В; дидокс; діетилнорспермін; дигідро-5-азацитидин; дигідротаксол, 9-; діоксаміцин; дифеніл спіромустин; доцетаксел; докозанол; доласетрон; доксифлуридин; доксорубіцин; дролоксифен; дронабінол; дуокарміцин SA; ебселен; екомустин; еделфозин; едреколомаб; ефлорнітин; елемен; емітефур; епірубіцин; епристерид; аналог естрамустину; агоністи естрогенів; антагоністи естрогенів; етанідазол; етопозид фосфат; екземестан; фадрозол; фазарабін; фенретинід; філграстим; фінастерид; флавопіридол; флезеластин; флуастерон; флударабін; фтордауноруніцин гідрохлорид; форфенімекс; форместан; фостриєцин; фотемустин; гадоліній тексафірин; нітрат галію; галоцитабін; ганірелікс; інгібітори желатинази; гемцитабін; інгібітори глутатіону; гепсульфам; герегулін; гексаметилен бісацетамід; гіперіцин; ібандронову кислоту; ідарубіцин; ідоксифен; ідрамантон; ілмофозин; іломастат; іматиніб (наприклад, ГЛІВЕК®), іміквімод; імуностимулюючі пептиди; інгібітор рецепторів інсуліноподібного фактора росту-1; агоністи інтерферону; інтерферони; інтерлейкіни; йобенгуан; йоддоксорубіцин; 4-іпомеанол; іроплакт; ірсогладин; ізобенгазол; ізогомогалікондрин В; ітасетрон; джасплакінолід; кагалалід F; ламелларин-N триацетат; ланреотид; лейнаміцин; ленограстим; лентинан сульфат; лептолстатин; летрозол; інгібуючий лейкоз фактор; лейкоцитарний альфа-інтерферон; лейпролід+естроген+прогестерон; лейпрорелін; левамизол; ліарозол; аналог лінійного поліаміну; ліпофільний дисахаридний пептид; ліпофільні сполуки платини; лісоклінамід 7; лобоплатин; ломбрицин; лометрексол; лонідамін; лосоксантрон; локсорибін; луртотекан; лютецію тексафірин; лізофілін; літичні пептиди; мейтансин; маностатин А; маримастат; масопротекс; маспін; інгібітори матрилізину; інгібітори матричної металопротеїнази; меногарил; мербарон; метерелін; метіониназу; метоклопрамід; інгібітор MIF (фактора, інгібуючого міграцію); міфепристон; мілтефозин; міримостим; мітогуазон; мітолактол; аналоги мітоміцину; мітонафід; мітотоксин-фактор росту фібробластів-сапорин; мітоксантрон; мофаротен; молграмостим; ербитукс, людський хоріонічний гонадотропін; монофосфорилолід А+sk (стрептокіназа) мікобактеріальної клітинної стінки; мопідамон; іпритний протираковий засіб; мікапероксид В; екстракт мікобактеріальної клітинної стінки; міріапрон; N-ацетилдиналін; N-заміщені бензаміди; нафарелін; нагрестип; налоксон+пентазоцин; напавін; нафтерпін; нартограстим; недаплатин; неморубіцин; неридронову кислоту; нілутамід; нізаміцин; модулятори оксиду азоту; нітроксидний антиоксидант; нітрулін; облімерсен (GENASENSE®); O⁶-бензилгуанін; октреотид; окиценон; олігонуклеотиди; онапристон; ондансетрон; орацин; пероральний індуктор цитокінів; ормаплатин; осатерон; оксаліплатин; оксауноміцин; паклітаксел; аналоги паклітакселу; похідні паклітакселу; палауамін; пальмітоїлризоксин; памідронову кислоту; панакситриол; паноміфен; парабактин; пазеліптин; пегаспаргазу; пелдезин; натрію пентозану полісульфат; пентостатин; пентрозол; перфлуброн; перфосфамід; периліловий спирт; феназиноміцин; фенілацетат; інгібітори фосфатази; піцибаніл; пілокарпін гідрохлорид; пірарубіцин; піритрексим; плацетин А; плацетин В; інгібітор активатора плазміногену; комплекс платини; сполуки платини; комплекс платини-триаміну; порфімер натрію; порфіроміцин; преднізон; пропіл біс-акридон; простагландин J2; інгібітори протеасоми; імуномодулятор на основі білка А; інгібітор протеїнкази С; інгібітори протеїнкази С, мікроалгал; інгібітори протеїн-тирозин-фосфатази; інгібітори пурин-нуклеозид-фосфорилази; пурпурины; піразолоакридин; кон'югат піридоксированого гемоглобіну й поліоксіетилену; антагоністи raf (рекомбінантного активованого фактора); ралтитрексед; рамосетрон; інгібітори фарнезил протеїн gas трансферази; інгібітори gas; інгібітор gas-GAP (гліцеральдегідфосфата); деметилований ретеліптин; етидронат ренію Re 186; ризоксин; рибозими; ретинамід RII; рогітукин; ромуртид; роквінимекс; рубігінон В1; рубоксил; сафінгол; сейнтопин; SarCNU; саркофітол А; сарграмостим; міметики Sdi 1; семустин; зв'язаний зі старінням інгібітор 1, смислові олігонуклеотиди; інгібітори передачі сигналів; сизофіран; собузоксан; боркапатат натрію; фенілацетат натрію; сольверол; білок, що зв'язує соматомедин; сонермін; спарфосову кислоту; спікаміцин D; спіромустин; спленопентин; спонгістатин 1; скваламін; стипіамід; інгібітори стромелізину; сульфінозин; надактивний антагоніст вазоактивного кишкового пептиду; сурадисту; сурамін; свейнсонін; талімустин; тамоксифен метийодид; тауromустин; тазаротен; текогалан натрію; тегафур; телурапірилії; інгібітори теломераз: темопорфін; теніпозид; тетрахлордекаоксид; тетразомін; талібластин; тіокоралін; тромбopoетин; міметик тромбopoетину; тималфазин; агоніст рецепторів тимопоетину; тимотринан; тиреостимулюючий гормон; етилетіопурпурин олова; тирапазамін; титаноцен біхлорид; топсентин; тореміфен; інгібітори трансляції; третиноїн; триацетилуридин; трицирибін; триметрексамід; трипторелін; тропісетрон; туростерид; інгібітори тирозинкінази; тирфостини; інгібітори UBC; убенімекс; інгібуючий фактор росту, що походить з урогенітального синуса; антагоністи рецепторів урокінази; вапреотид; варіолін В; веларезол; верамін; вердини; вертепорфін; вінорелбін; вінксалтин; вітаксин; ворозол; занотерон; зеніплатин; зиласкорб і зиностатин стимуламер.

Певні другі активні засоби включають без обмеження облімерсен (ГЕНАСЕНС®), ремікад, доцетаксел, цефалоксикс, мелфалан, дексаметазон (ДЕКАДРОН®), стероїди, гемцитабін, цисплатин, темозоломід, етопозид, циклофосфамід, темодар, карбоплатин, прокарбазин, гліадел, тамоксифен, топотекан, метотрексат, ARISA®, таксол, таксотере, фторурацил, лейковорин, іринотекан, кселода, СРТ-11, інтерферон альфа, пегілований інтерферон альфа (наприклад, ПЕГ ІНТРОН-А), капецитабін, цисплатин, тіотепа, флударабін, карбоплатин, ліпосомальний даунорубіцин, цитарабін, доксетаксол, пацілітаксел, вінбластин, IL-2, GM-CSF, дакарбазин, вінорелбін, золедронову кислоту, пальмітронат, біаксин, бусульфан, преднізон, бісфосфонат, миш'яковий триоксид, вінкрисин, доксорубіцин (ДОКСИЛ®), паклітаксел, ганцикловір, адриаміцин, естрамустину натрію фосфат (ЕМЦИТ®), суліндак і етопозид.

5.5 Біомаркери

Даний винахід стосується способів, пов'язаних із застосуванням мРНК або білків, як біомаркерів для встановлення ефективності лікування раку. Рівні мРНК або білка можуть використовуватися для визначення того, чи ймовірний успіх застосування конкретного засобу при лікуванні певного типу раку, наприклад, неходжкінської лімфоми.

Біологічний маркер або "біомаркер" являє собою речовину, виявлення якої вказує на певний біологічний стан, такий як, наприклад, присутність раку. У деяких варіантах здійснення, біомаркери можуть визначатися або окремо, або вміст декількох біомаркерів може вимірюватися одночасно.

У деяких варіантах здійснення, "біомаркер" вказує на зміну рівня експресії мРНК, що може корелюватися з ризиком або прогресуванням захворювання, або зі сприйнятливостю захворювання до даного лікування. У деяких варіантах здійснення, біомаркер являє собою нуклеїнову кислоту, таку як мРНК або кДНК.

У додаткових варіантах здійснення "біомаркер" вказує на зміну рівня експресії поліпептиду або білка, що може корелюватися з ризиком, сприйнятливостю до лікування або прогресуванням захворювання. У деяких варіантах здійснення, біомаркер може являти собою поліпептид або білок або їх фрагмент. Відносний рівень певних білків може визначатися способами, відомими в даній галузі. Наприклад, можуть використовуватися способи на осові антитіл, такі як імуноблотинг, ферментний імуносорбентний аналіз (ELISA) або інші способи.

5.6 Способи лікування й попередження

В одному варіанті здійснення, даний винахід стосується способу лікування й попередження раку, який включає введення пацієнту сполуки за даним винаходом, наприклад, сполуки формули I, або її енантіомеру або суміші енантіомерів, або її фармацевтично прийнятної солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу.

В іншому варіанті здійснення, даний винахід стосується способу ведення пацієнтів, які страждають на рак, який включає введення пацієнту сполуки за даним винаходом, наприклад, сполуки формули I або її енантіомеру, або суміші її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятної солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу. Даний винахід стосується способів лікування або ведення пацієнтів з лімфоною, зокрема, неходжкінською лімфоною. У деяких варіантах здійснення, даний винахід стосується способів лікування або ведення пацієнтів з неходжкінською лімфоною (NHL), включаючи без обмеження дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому (DLBCL), з використанням прогностичних факторів.

Даний винахід також стосується способів лікування пацієнтів, які раніше одержували лікування із приводу раку, але в яких стандартні способи лікування неефективні, а також тих, які раніше не одержували лікування. Винахід також включає способи лікування пацієнтів, незалежно від віку пацієнта, хоча деякі захворювання або розлади частіше зустрічаються в певних вікових групах. Винахід, крім того, включає способи лікування пацієнтів, які були піддані хірургічному лікуванню зі спробою лікування розглянутого захворювання або стану, а також тих, які не піддалися хірургічному лікуванню. Через те, що в пацієнтів, які страждають на рак, є неоднорідні клінічні прояви й варійовані клінічні результати, лікування, яке призначається пацієнту, може варіюватися залежно від прогнозу в пацієнта або пацієнтки. Досвідчений клініцист зможе легко визначити без непотрібного експериментування певні вторинні засоби, типи хірургічного втручання й типи не медикаментозного стандартного лікування, які можуть ефективно застосовуватися для лікування окремого пацієнта, що страждає на рак.

Використовуваний у даному описі термін "рак" включає без обмеження солідні пухлини й гематологічні пухлини. Термін "рак" стосується захворювання шкірних тканин, органів, крові й судин, включаючи без обмеження ракові ураження сечового міхура, кісток, крові, мозку, молочної залози, шийки матки, грудної клітки, ободової кишки, ендометрія, ока, голови, нирок, печінки, лімфовузлів, легенів, ротової порожнини, шиї, яєчників, підшлункової залози, передміхурової залози, прямої кишки, шлунку, сім'яників, горла й матки. Певні форми раку

включають без обмеження запущені злоякісні ураження, амілоїдоз, нейробластому, менінгіому, гемангіоперицитому, множинні метастази в мозок, мультиформну гліобластому, гліобластому, гліому стовбура головного мозку, злоякісну пухлину мозку з несприятливим прогнозом, злоякісну гліому, рецидивуючу злоякісну гліому, анапластичну астроцитому, анапластичну олігодендрогліому, нейроендокринну пухлину, аденокарциному прямої кишки, колоректальний рак стадій C і D по класифікації Дьюкса, неоперабельну колоректальну карциному, метастатичну гепатоцелюлярну карциному, саркому Капоші, каротиповий гострий мієлобластний лейкоз, лімфому Ходжкіна, неходжкінську лімфому, шкірну Т-клітинну лімфому, шкірну В-клітинну лімфому, дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому, низькодиференційовану фолікулярну лімфому, злоякісну меланому, злоякісну мезотеліому, синдром злоякісної мезотеліоми із плевральним випотом, карциному очередини, папілярну серозну карциному, гінекологічну саркому, саркому м'яких тканин, склеродермію, шкірний васкуліт, гістіоцитоз із клітин Лангерганса, лейоміосаркому, прогресуючу осифікуючу фібродисплазію, рак передміхурової залози, рефракторний до гормонів, резектовану саркому м'яких тканин з високим ризиком, неоперабельну гепатоцелюлярну карциному, макроглобулінемію Вальденстрема, млявоплинну мієлому, мієлому, що повільно розвивається, рак фаллопієвих труб, андроген-незалежний рак передміхурової залози, андроген-залежний не метастатичний рак передміхурової залози IV стадії, нечутливий до гормональної терапії рак передміхурової залози, нечутливий до хіміотерапії рак передміхурової залози, папілярну карциному щитовидної залози, фолікулярну карциному щитовидної залози, медулярну карциному щитовидної залози й лейоміому.

У певних варіантах здійснення, рак являє собою гематологічну пухлину. У певних варіантах здійснення, гематологічна пухлина є метастатичною. У певних варіантах здійснення, гематологічна пухлина є стійкою до медикаментозної терапії. У певних варіантах здійснення, рак являє собою мієлому або лімфому.

У певних варіантах здійснення, рак являє собою солідну пухлину. У певних варіантах здійснення, солідна пухлина є метастатичною. У певних варіантах здійснення, солідна пухлина є стійкою до медикаментозної терапії. У певних варіантах здійснення, солідна пухлина являє собою гепатоцелюлярну карциному, рак передміхурової залози, рак яєчників або гліобластому.

У певних варіантах здійснення, терапевтично або профілактично ефективна кількість сполуки становить від приблизно 0,005 до приблизно 1000 мг на день, від приблизно 0,01 до приблизно 500 мг на день, від приблизно 0,01 до приблизно 250 мг на день, від приблизно 0,01 до приблизно 100 мг на день, від приблизно 0,1 до приблизно 100 мг на день, від приблизно 0,5 до приблизно 100 мг на день, від приблизно 1 до приблизно 100 мг на день, від приблизно 0,01 до приблизно 50 мг на день, від приблизно 0,1 до приблизно 50 мг на день, від приблизно 0,5 до приблизно 50 мг на день, від приблизно 1 до приблизно 50 мг на день, від приблизно 0,02 до приблизно 25 мг на день або від приблизно 0,05 до приблизно 10 мг на день.

У певному варіанті здійснення, терапевтично або профілактично ефективна кількість сполуки становить від приблизно 0,005 до приблизно 1000 мг на день, від приблизно 0,01 до приблизно 500 мг на день, від приблизно 0,01 до приблизно 250 мг на день, від приблизно 0,01 до приблизно 100 мг на день, від приблизно 0,1 до приблизно 100 мг на день, від приблизно 0,5 до приблизно 100 мг на день, від приблизно 1 до приблизно 100 мг на день, від приблизно 0,01 до приблизно 50 мг на день, від приблизно 0,1 до приблизно 50 мг на день, від приблизно 0,5 до приблизно 50 мг на день, від приблизно 1 до приблизно 50 мг на день, від приблизно 0,02 до приблизно 25 мг на день або від приблизно 0,05 до приблизно 10 мг через день.

У певних варіантах здійснення, терапевтично або профілактично ефективна кількість сполуки становить приблизно 1, приблизно 2, приблизно 5, приблизно 10, приблизно 15, приблизно 20, приблизно 25, приблизно 30, приблизно 40, приблизно 45, приблизно 50, приблизно 60, приблизно 70, приблизно 80, приблизно 90, приблизно 100 або приблизно 150 мг на день.

В одному варіанті здійснення, рекомендований діапазон добової дози сполуки формули I із приводу станів, описаних у даній заявці, знаходиться в межах діапазону від приблизно 0,5 мг до приблизно 50 мг на день, переважно, що вводиться у вигляді однократної дози один раз на день, або дробовими дозами протягом дня. У деяких варіантах здійснення, дозування знаходиться в межах діапазону від приблизно 1 мг до приблизно 50 мг на день. В інших варіантах здійснення, дозування знаходиться в межах діапазону від приблизно 0,5 до приблизно 5 мг на день. Певні дози на день включають 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 або 50 мг на день.

У певному варіанті здійснення, рекомендоване початкове дозування може становити 0,5, 1,

2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 або 50 мг на день. В іншому варіанті здійснення, рекомендоване початкове дозування може становити 0,5, 1, 2, 3, 4 або 5 мг на день. Доза може збільшуватися до 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 і 50 мг/день. У певному варіанті здійснення, сполука може вводитися в кількості приблизно 25 мг/день пацієнтам з NHL (наприклад, DLBCL). У конкретному варіанті здійснення, сполука може вводитися в кількості приблизно 10 мг/день пацієнтам з NHL (наприклад, DLBCL).

У певних варіантах здійснення, терапевтично або профілактично ефективна кількість сполуки становить від приблизно 0,001 до приблизно 100 мг/кг/день, від приблизно 0,01 до приблизно 50 мг/кг/день, від приблизно 0,01 до приблизно 25 мг/кг/день, від приблизно 0,01 до приблизно 10 мг/кг/день, від приблизно 0,01 до приблизно 9 мг/кг/день, від приблизно 0,01 до приблизно 8 мг/кг/день, від приблизно 0,01 до приблизно 7 мг/кг/день, від приблизно 0,01 до приблизно 6 мг/кг/день, від приблизно 0,01 до приблизно 5 мг/кг/день, від приблизно 0,01 до приблизно 4 мг/кг/день, від приблизно 0,01 до приблизно 3 мг/кг/день, від приблизно 0,01 до приблизно 2 мг/кг/день або від приблизно 0,01 до приблизно 1 мг/кг/день.

Доза, що вводиться, може бути також виражена в одиницях, відмінних від мг/кг/день. Наприклад, дози для парентерального введення можуть бути виражені у вигляді мг/м²/день. Середньому фахівцеві в даній галузі цілком відомо, як перевести дози із мг/кг/день у мг/м²/день для даного або зросту, або маси тіла індивіда або для обох показників (див. сайт Інтернету, www.fda.gov/cder/cancer/animalframe.htm). Наприклад, доза 1 мг/кг/день для людини з масою тіла 65 кг приблизно дорівнює 38 мг/м²/день.

У певних варіантах здійснення, кількість сполуки, що вводиться, достатня для забезпечення концентрації сполуки в плазмі в стаціонарному стані в діапазоні від приблизно 0,001 до приблизно 500 мкМ, від приблизно 0,002 до приблизно 200 мкМ, від приблизно 0,005 до приблизно 100 мкМ, від приблизно 0,01 до приблизно 50 мкМ, від приблизно 1 до приблизно 50 мкМ, від приблизно 0,02 до приблизно 25 мкМ, від приблизно 0,05 до приблизно 20 мкМ, від приблизно 0,1 до приблизно 20 мкМ, від приблизно 0,5 до приблизно 20 мкМ або від приблизно 1 до приблизно 20 мкМ.

В інших варіантах здійснення, кількість сполуки, що вводиться, достатня для забезпечення концентрації сполуки в плазмі в стаціонарному стані в діапазоні від приблизно 5 до приблизно 100 нМ, приблизно 5 до приблизно 50 нМ, від приблизно 10 до приблизно 100 нМ, від приблизно 10 до приблизно 50 нМ або від приблизно 50 до приблизно 100 нМ.

Використовуваний у даному описі термін "концентрація в плазмі в стаціонарному стані" являє собою концентрацію, що досягається після періоду введення сполуки за даним винаходом, наприклад, сполуки формули I або її енантіомеру, або суміші її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятної солі, сольовату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу. Після досягнення стаціонарного стану, на кривій "концентрація в плазмі-час" сполуки є невеликі піки й заглиблення.

У певних варіантах здійснення, кількість сполуки, що вводиться, достатня для забезпечення максимальної концентрації (пікової концентрації) сполуки в плазмі в діапазоні від приблизно 0,001 до приблизно 500 мкМ, від приблизно 0,002 до приблизно 200 мкМ, від приблизно 0,005 до приблизно 100 мкМ, від приблизно 0,01 до приблизно 50 мкМ, від приблизно 1 до приблизно 50 мкМ, від приблизно 0,02 до приблизно 25 мкМ, від приблизно 0,05 до приблизно 20 мкМ, від приблизно 0,1 до приблизно 20 мкМ, від приблизно 0,5 до приблизно 20 мкМ або від приблизно 1 до приблизно 20 мкМ.

У певних варіантах здійснення, кількість сполуки, що вводиться, достатня для забезпечення мінімальної концентрації (концентрації безпосередньо перед уведенням чергової дози) сполуки в плазмі в діапазоні від приблизно 0,001 до приблизно 500 мкМ, від приблизно 0,002 до приблизно 200 мкМ, від приблизно 0,005 до приблизно 100 мкМ, від приблизно 0,01 до приблизно 50 мкМ, від приблизно 1 до приблизно 50 мкМ, від приблизно 0,01 до приблизно 25 мкМ, від приблизно 0,01 до приблизно 20 мкМ, від приблизно 0,02 до приблизно 20 мкМ, від приблизно 0,02 до приблизно 20 мкМ або від приблизно 0,01 до приблизно 20 мкМ.

У певних варіантах здійснення, кількість сполуки, що вводиться, достатня для забезпечення площі по кривій (AUC) "концентрація-час" сполуки в діапазоні від приблизно 100 до приблизно 100000 нг*год./мл, від приблизно 1000 до приблизно 50000 нг*год./мл, від приблизно 5000 до приблизно 25000 нг*год./мл або від приблизно 5000 до приблизно 10000 нг*год./мл.

У певних варіантах здійснення, пацієнт, що підлягає лікуванню одним зі способів за даним винаходом, не одержував протиракової терапії перед уведенням сполуки формули I. У певних варіантах здійснення, пацієнт, що підлягає лікуванню одним зі способів за даним винаходом, одержував протиракову терапію перед уведенням сполуки формули I. У певних варіантах здійснення, у пацієнта, що підлягає лікуванню одним зі способів за даним винаходом, розвилася

стійкість до протиракової терапії.

Способи за даним винаходом включають лікування пацієнта незалежно від віку пацієнта, хоча деякі захворювання або розлади частіше зустрічаються в певних вікових групах. Крім того, даний винахід стосується способу лікування пацієнта, який був підданий хірургічному лікуванню зі спробою лікування розглянутого захворювання або стану, а також пацієнта, який не піддавався хірургічному втручанню. Через те, що в пацієнтів, які страждають на рак, є неоднорідні клінічні прояви і варійовані клінічні результати, лікування, яке призначається пацієнту, може варіюватися залежно від прогнозу в пацієнта або пацієнтки. Досвідчений клініцист зможе легко визначити без непотрібного експериментування певні вторинні засоби, типи хірургічного втручання й типи не медикаментозного стандартного лікування, які можуть ефективно застосовуватися для лікування окремого пацієнта, що страждає на рак.

Залежно від підлягаючого лікуванню захворювання й стану індивіда, сполука формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф може вводитися пероральним, парентеральним (наприклад, внутрішньовенним, внутрішньочеревинним, внутрішньовенним, CIV (безперервною внутрішньовенною інфузією), внутрішньоцистернальною ін'єкцією або інфузією, підшкірною ін'єкцією або імплантатом), інгаляцією, інтраназальним, вагінальним, ректальним, сублінгвальним або топічним (наприклад, трансдермальним або місцевим) шляхами введення. Сполука формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф можуть включатися до складу окремо або разом у прийнятній стандартній лікарській формі з фармацевтично прийнятними ексципієнтами, носіями, ад'ювантами й основами, доцільними для кожного шляху введення.

В одному варіанті здійснення, сполука формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф можуть уводитися перорально. В іншому варіанті здійснення, сполука формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф можуть уводитися парентерально. У ще одному варіанті здійснення, сполука формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводяться внутрішньовенно.

Сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф можуть доставлятися у вигляді однієї дози, такої як, наприклад, одна болюсна ін'єкція, або пероральні таблетки або пігулки; або протягом часу, наприклад, безперервною інфузією протягом часу або дробовими болюсними дозами протягом часу. При необхідності, сполука може вводитися повторно, наприклад, доти поки в пацієнта не настане стабілізація плин захворювання або зворотний його розвиток, або доти поки в пацієнта не відбудеться прогресування захворювання або не розів'ється неприйнятна токсичність. Наприклад, стабільний плин захворювання для солідних пухлин у цілому означає, що перпендикулярний діаметр вимірюваних уражень не збільшився на 25 % або більше від останнього вимірювання. Див. Інструкцію із критеріїв оцінки ефективності лікування при солідних пухлинах "Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) Guidelines", Journal of the National Cancer Institute 92(3): 205-216 (2000). Стабільний плин захворювання або його відсутність визначається способами, відомими в даній галузі, таким як оцінка симптомів у пацієнта, фізикальне обстеження, візуалізація пухлини, зображення якої було отримано з використанням рентгенівського методу, CAT (комп'ютерної томографії), PET (позитронно-емісійної томографії) або сканування MRI (магнітно-резонансною візуалізацією) і інших загальноприйнятих способів.

Сполука формули I або її енантіомер або суміш енантіомерів; або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф може вводитися один раз на день (QD) або ділитися на множинні добові дози, такі як уведення два рази на день (BID), три рази на день (TID) і чотири рази на день (QID). Крім того, уведення може бути безперервним (тобто, один раз на день протягом послідовних днів або щодня), періодичним, наприклад, циклами (тобто, включаючи дні, тижні або місяці перерви без уведення лікарського засобу). Використовуваний у даному описі термін "щодня" призначений для позначення того, що терапевтична сполука, така як сполука формули I, уводиться один або більше ніж один раз щодня, наприклад, протягом періоду часу. Термін "безперервне" призначений для позначення того, що терапевтична сполука, така як сполука формули I, уводиться щодня протягом безперервного періоду щонайменше від 10 днів до 52 тижнів. Використовуваний у даному описі термін "періодичне" або "періодично" призначений для позначення припинення й початку через

однакові або неоднакові інтервали. Наприклад, періодичне введення сполуки формули I являє собою введення протягом періоду від одного до шести днів на тиждень, введення циклами (наприклад, щоденне введення протягом від двох до восьми послідовних тижнів, і потім періодом перерви без введення протягом періоду до одного тижня), або введення через день.

5 Використовуваний у даному описі термін "циклічне введення" призначений для позначення того, що терапевтична сполука, така як сполука формули I, уводиться щодня або безупинно, але з періодом перерви.

У деяких варіантах здійснення, частота введення знаходиться в діапазоні від приблизно однієї дози на день до приблизно однієї дози на місяць. У певних варіантах здійснення, 10 введення здійснюється один раз на день, два рази на день, три рази на день, чотири рази на день, один раз через день, два рази на тиждень, один раз на тиждень, один раз на два тижні, один раз на три тижні або один раз на чотири тижні. В одному варіанті здійснення, сполука формули I або її енантіомер, або суміш енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться один раз на день. В іншому 15 варіанті здійснення, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться два рази на день. У ще одному варіанті здійснення, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться три рази на день. У ще одному варіанті здійснення, сполука формули I 20 або її енантіомер або суміш енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться чотири рази на день.

У певних варіантах здійснення, сполука формули I або його енантіомер або суміш енантіомерів, або його фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться один раз на день від одного дня до шести місяців, від одного тижня до 25 трьох місяців, від одного тижня до чотирьох тижнів, від одного тижня до трьох тижнів або від одного тижня до двох тижнів. У певних варіантах здійснення, сполука формули I або його фармацевтично прийнятна сіль або сольват уводиться один раз на день протягом одному тижня, двох тижнів, трьох тижнів або чотирьох тижнів. В одному варіанті здійснення, сполука формули I або її енантіомер, або суміш енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, 30 сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться один раз на день протягом одному тижня. В іншому варіанті здійснення, сполука формули I або її енантіомер, або суміш енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться один раз на день протягом двох тижнів. У ще одному варіанті здійснення, сполука формули I або її енантіомер, або суміш енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться один раз на день протягом 35 трьох тижнів. У ще одному варіанті здійснення, сполука формули I або її енантіомер, або суміш енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться один раз на день протягом чотирьох тижнів.

5.6.1 Комбіноване лікування із другим активним засобом

40 Сполука формули I або її енантіомер, або суміш енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф може також комбінуватися або застосовуватися в комбінації з іншими терапевтичними засобами, використовуваними при лікуванні і/або попередженні описаних у даній заявці форм раку.

В одному варіанті здійснення, даний винахід стосується способу лікування, попередження 45 або ведення страждаючих на рак пацієнтів, що включає введення пацієнту 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону або його енантіомеру, або суміші енантіомерів, або його фармацевтично прийнятної солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу в комбінації з одним або декількома другими активними засобами й, необов'язково, у комбінації із променевою терапією, гемотрансфузіями або хірургічним лікуванням. Приклади других активних 50 засобів описані в даній заявці (див., наприклад, розділ 5.3).

Використовуваний у даному описі термін "у комбінації" включає застосування більше одного терапевтичного засобу (наприклад, одного або декількох профілактичних і/або терапевтичних засобів). Однак використання терміна "у комбінації" не обмежує порядок, у якому терапевтичні засоби (наприклад, профілактичні і/або терапевтичні засоби) уводяться пацієнту, що має 55 захворювання або розлад. Перший терапевтичний засіб (наприклад, профілактичний або терапевтичний засіб, такий як сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф) може вводиться перед (наприклад, за 5 хвилин, 15 хвилин, 30 хвилин, 45 хвилин, 1 годину, 2 години, 4 години, 6 годин, 12 годин, 24 години, 48 години, 72 60 години, 96 годин, 1 тиждень, 2 тижні, 3 тижні, 4 тижні, 5 тижнів, 6 тижнів, 8 тижнів або 12 тижнів),

одночасно або після (наприклад, через 5 хвилин, 15 хвилин, 30 хвилин, 45 хвилин, 1 годину, 2 години, 4 години, 6 годин, 12 годин, 24 години, 48 годин, 72 години, 96 годин, 1 тиждень, 2 тижні, 3 тижні, 4 тижні, 5 тижнів, 6 тижнів, 8 тижнів або 12 тижнів) введення індивіду другого терапевтичного засобу (наприклад, профілактичного або терапевтичного засобу). Даний винахід також передбачає лікування трьома терапевтичними засобами.

Уведення сполуки формули I і одного або декількох других активних засобів може відбуватися одночасно або послідовно тим самим або різними шляхами введення. Придатність конкретного шляху введення, використовуваного для конкретного активного засобу, буде залежати від самого активного засобу (наприклад, того, чи може він вводитися перорально без руйнування перед вступом у кровотік) й форми раку, який піддається лікуванню.

Шлях введення сполуки формули I не залежить від шляху введення другого терапевтичного засобу. В одному варіанті здійснення, сполука формули I уводиться перорально. В іншому варіанті здійснення, сполука формули I уводиться внутрішньовенно. Так, відповідно до цих варіантів здійснення, сполука формули I уводиться перорально або внутрішньовенно, а друга терапевтична сполука може вводитися перорально, парентерально, внутрішньоочеревинно, внутрішньовенно, внутрішньоартеріально, трансдермально, сублінгвально, внутрішньом'язово, ректально, трансбукально, інтраназально, ліпосомально, за допомогою інгаляції, вагінально, інтраокулярно, шляхом місцевої доставки катетером або стентом, підшкірно, у жирову тканину, у суглоби, підоболонково або в лікарській формі повільного вивільнення. В одному варіанті здійснення, сполука формули I і другий терапевтичний засіб вводяться тим самим способом введення, перорально або внутрішньовенно. В іншому варіанті здійснення, сполука формули I уводиться одним способом введення, наприклад, внутрішньовенно, тоді як другий засіб (протираковий засіб) уводиться іншим способом, наприклад, перорально.

В одному варіанті здійснення, другий терапевтичний засіб уводиться внутрішньовенно або підшкірно й один або два рази на день у кількості від приблизно 1 до приблизно 1000 мг, від приблизно 5 до приблизно 500 мг, від приблизно 10 до приблизно 350 мг, або від приблизно 50 до приблизно 200 мг. Певна кількість другого активного засобу буде залежати від певного застосовуваного засобу, типу захворювання, що піддається лікуванню, або способу ведення пацієнта із цим захворюванням, тяжкості й стадії захворювання й кількості сполуки формули I за даним винаходом й будь-яких необов'язкових додаткових активних засобів, що одночасно вводяться пацієнту. У певних варіантах здійснення, другий активний засіб являє собою облімерсен (GENASENSE®), GM-CSF, G-CSF, SCF, EPO, таксотере, іринотекан, дакарбазин, трансретіноеву кислоту, топотекан, пентоксифілін, ципрофлоксацин, дексаметазон, вінкрисдин, доксорубіцин, інгібітор COX-2, IL2, IL8, IL18, IFN, Ara-C, вінорелбін або їх комбінацію.

У певних варіантах здійснення, GM-CSF, G-CSF, SCF або EPO уводиться підшкірно протягом приблизно п'яти днів у чотири- або шеститижневому циклі в кількості в діапазоні від приблизно 1 до приблизно 750 $\text{мг/м}^2/\text{день}$, від приблизно 25 до приблизно 500 $\text{мг/м}^2/\text{день}$, від приблизно 50 до приблизно 250 $\text{мг/м}^2/\text{день}$ або від приблизно 50 до приблизно 200 $\text{мг/м}^2/\text{день}$. У певних варіантах здійснення, GM-CSF може вводитися в кількості від приблизно 60 до приблизно 500 мкг/м^2 внутрішньовенно протягом 2 годин або від приблизно 5 до приблизно 12 $\text{мкг/м}^2/\text{день}$ підшкірно. У певних варіантах здійснення, G-CSF може вводитися підшкірно в кількості приблизно 1 мкг/кг/день спочатку й може підбиратися залежно від збільшення загальної кількості гранулоцитів. Підтримуюча доза G-CSF може вводитися в кількості приблизно 300 мкг (у пацієнтів з меншою масою тіла) або 480 мкг підшкірно. У певних варіантах здійснення, EPO може вводитися підшкірно в кількості 10000 Одиниць 3 рази на тиждень.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф, уводиться з мелфаланом і дексаметазоном пацієнтам з амілоїдозом. У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф і стероїди можуть вводитися пацієнтам з амілоїдозом.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться з гемцитабіном і цисплатином пацієнтам з місцево-поширеним або метастатичним перехідноклітинним раком сечового міхура.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться в комбінації із другим активним інгредієнтом у такий спосіб: темозоломід педіатричним пацієнтам з рецидивуючими або

прогресуючими пухлинами мозку або рекурентною нейробластою; целекоксиб, етопозид і циклофосфамід із приводу рецидивуючого або прогресуючого раку ЦНС (центральної нервової системи); темодар - пацієнтам з рекурентною або прогресуючою менінгіою, злоякісною менінгіою, гемангіоперицитомою, множинними метастазами в мозок, рецидивуючими пухлинами мозку або знову діагностованою мультиформною гліобластою; іринотекан - пацієнтам з рекурентною гліобластою; карбоплатин - педіатричним пацієнтам із гліомою стовбура головного мозку; прокарбазин - педіатричним пацієнтам із прогресуючими злоякісними гліомами; циклофосфамід - пацієнтам зі злоякісними пухлинами мозку з несприятливим прогнозом, знову діагностованою або рекурентною мультиформною гліобластою; Гліадел® - із приводу високодиференційованих рекурентних злоякісних гліом; темозоломід і тамоксифен - із приводу анапластичної астроцитомі; або топотекан - із приводу гліом, гліобластоми, анапластичної астроцитомі або анапластичної олігодендрогліоми.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер або суміш енантіомерів або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф вводиться з метотрексаматом, циклофосфамідом, таксаном, абраксаном, лапатинібом, герцептином, інгібіторами ароматази, селективними модуляторами естрогенових рецепторів, антагоністами естрогенових рецепторів і/або PLX3397 (Plexxikon) - пацієнтам з метастатичним раком молочної залози.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф вводиться з темозоломідом пацієнтам з нейроендокринними пухлинами.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф вводиться з гемцитабіном пацієнтам з рекурентним або метастатичним раком голови й шиї.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф вводиться з гемцитабіном пацієнтам при раку підшлункової залози.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф вводиться пацієнтам при раку ободової кишки в комбінації з ARISA®, авастатином, таксолем і/або таксотере.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер або суміш її енантіомерів або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф вводиться з капецитабіном і/або PLX4032 (Plexxikon) пацієнтам з рефракторним колоректальним раком або пацієнтам, у яких терапія першої лінії виявилася неефективною або це лікування має низьку ефективність при аденокарциномі ободової кишки або прямої кишки.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф вводиться в комбінації із фторурацилом, лейковорином і іринотеканом пацієнтам при колоректальному раку стадій C і D по класифікації Дьюкса або пацієнтам, які раніше одержували лікування із приводу метастатичного колоректального раку.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф вводиться пацієнтам з рефракторним колоректальним раком у комбінації з капецитабіном, кселодою і/або CPT-11.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф вводиться з капецитабіном і іринотеканом пацієнтам з рефракторним колоректальним раком або пацієнтам з неоперабельною або метастатичною колоректальною карциною.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф вводиться окремо або в комбінації з інтерфероном-альфа або капецитабіном пацієнтам з неоперабельною або метастатичною гепатоцелюлярною карциною; або із цисплатином і тіотепом - пацієнтам з первинним або метастатичним раком

печінки.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться в комбінації з пегілованим інтерфероном-альфа пацієнтам із саркомою Капоші.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться в комбінації із флударабіном, карбоплатином і/або топотеканом пацієнтам з рефракторним або рецидивуючими або загостреним мієлогенним лейкозом з високим ризиком.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф, уводиться в комбінації з ліпосомальним даунорубіцином, топотеканом і/або цитарабіном пацієнтам з гострим мієлобластним лейкозом несприятливого каріотипу.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться в комбінації з гемцитабіном, абраксаном, ерлотинібом, гефтинібом і/або іринотеканом пацієнтам з недрібноклітинним раком легенів.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться в комбінації з карбоплатином і іринотеканом пацієнтам з недрібноклітинним раком легенів.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться з доксетаксомом пацієнтам з недрібноклітинним раком легенів, які раніше одержували лікування карбоплатином/VP-16 і променевою терапією.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф, уводиться в комбінації з карбоплатином і/або таксотере, або в комбінації з карбоплатином, паклітакселом і/або променевою терапією грудної порожнини пацієнтам з недрібноклітинним раком легенів.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф, уводиться в комбінації з таксотере пацієнтам з недрібноклітинним раком легких стадії IIIB або IV.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться в комбінації з облімерсеном (Генасенс®) пацієнтам з недрібноклітинним раком легенів.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться в комбінації з ABT-737 (Abbott Laboratories) і/або обатоклаксом (GX15-070) пацієнтам з лімфою й іншими формами гематологічних злоякісних захворювань.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться окремо або в комбінації із другим активним інгредієнтом, таким як вінбластин або флударабін, пацієнтам з різними типами лімфоми, включаючи без обмеження лімфому Ходжкіна, неходжкінську лімфому, шкірну Т-клітинну лімфому, шкірну В-клітинну лімфому, дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому або рецидивуючу або рефракторну низькодиференційовану фолікулярну лімфому.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться в комбінації з таксотере, IL-2, IFN, GM-CSF, PLX4032 (Plexxikon) і/або дакарбазином пацієнтам з різними типами або стадіями меланоми.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват,

гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться окремо або в комбінації з вінорелбіном пацієнтам зі злоякісною мезотеліомою або недрібноклітинним раком легких стадії IIIB із плевральними імплантатами або синдромом мезотеліоми зі злоякісним плевральним випотом.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться пацієнтам з різними типами або стадіями множинної мієломи в комбінації з дексаметазоном, золедроновію кислотою, палмітронатом, GM-CSF, біаксином, вінбластином, мелфаланом, бусульфаном, циклофосфамідом, IFN, палмідронатом, преднізоном, бісфосфонатом, целекоксибом, триоксидом миш'яку, ПЕГ ІНТРОНОМ-А, вінкристином або їх комбінацією.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться пацієнтам з рецидивуючою або рефракторною множинною мієломою у комбінації з доксорубіцином (Доксилон[®]), вінкристином і/або дексаметазоном (Декардрон[®]).

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться пацієнтам з різними типами або стадіями раку яєчників, такими як очеревинна карцинома, папілярна серозна карцинома, рефракторний рак яєчників або рекурентний рак яєчників, у комбінації з таксолем, карбоплатином, доксорубіцином, гемцитабіном, цисплатином, кселодою, паклітакселом, дексаметазоном або їх комбінацією.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться пацієнтам з різними типами або стадіями раку передміхурової залози в комбінації із кселодою, 5-FU/LV (5-фторурацил з лейковорином), гемцитабіном, іринотеканом плюс гемцитабіном, циклофосфамідом, вінкристином, дексаметазоном, GM-CSF, целекоксибом, таксотере, ганцикловіром, паклітакселом, адриаміцином, доцетакселом, естрамустином, Емцитом, дендероном або їх комбінацією.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться пацієнтам з різними типами або стадіями нирково-клітинного раку в комбінації з капецитабіном, IFN, тамоксифеном, IL-2, GM-CSF, Целебрексом[®] або їх комбінацією.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться пацієнтам з різними типами або стадіями саркоми й раку жіночих статевих органів, матки або м'якої тканини в комбінації з IFN, інгібітором СОХ-2, таким як Целебрекс[®], і/або суліндаком.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться пацієнтам з різними типами або стадіями солідних пухлин у комбінації із Целебрексом, етопозидом, циклофосфамідом, доцетакселом, апецитабіном, IFN, тамоксифеном, IL-2, GM-CSF, або їх комбінацією.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться пацієнтам зі склеродермією або шкірним васкулітом у комбінації із целебрексом, етопозидом, циклофосфамідом, доцетакселом, апецитабіном, IFN, тамоксифеном, IL-2, GM-CSF або їх комбінацією.

Даний винахід також включає спосіб збільшення дозування протиракового лікарського препарату або засобу, який може бути безпечно й ефективно введений пацієнту, причому спосіб включає введення пацієнту (наприклад, людині) сполуки формули I, або її енантіомеру, або суміші її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятної солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу. Пацієнти, у яких цей спосіб може виявити сприятливий ефект, являють собою тих, у яких імовірний розвиток побічних ефектів, пов'язаних із протираковими лікарськими засобами для лікування певного виду раку шкіри, підшкірної тканини, лімфовузлів, мозку, легенів, печінки, кісток, кишечника, ободової кишки, серця, підшлункової залози, надниркової залози, нирок, передміхурової залози, молочної залози, колоректального раку або їх комбінацій. Уведення сполуки за даним винаходом, наприклад, сполуки формули I, або її енантіомеру або суміші енантіомерів або її фармацевтично

прийнятної солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу полегшує або зменшує побічні ефекти, які є настільки тяжкими, що це інакше обмежило б кількість протиракового лікарського засобу.

В одному варіанті здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер або, суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться перорально й один раз на день у кількості в діапазоні від приблизно 0,1 до приблизно 150 мг, від приблизно 1 до приблизно 50 мг або від приблизно 2 до приблизно 25 мг, до, під час або після появи побічного ефекту, пов'язаного із введенням протиракового лікарського засобу пацієнту. У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться в комбінації з певними засобами, такими як гепарин, аспірин, кумадин або G-CSF, щоб уникнути побічних ефектів, які пов'язані із протираковими лікарськими засобами, таких як без обмеження нейтропенія або тромбоцитопенія.

В одному варіанті здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф уводиться пацієнтам із захворюваннями й розладами, які пов'язані або характеризуються небажаним ангіогенезом, у комбінації з додатковими активними інгредієнтами, включаючи без обмеження протиракові лікарські засоби, протизапальні засоби, антигістамінні препарати, антибіотики й стероїди.

В іншому варіанті здійснення, даний винахід включає спосіб лікування, попередження і/або ведення пацієнтів, які страждають на рак, який включає введення сполуки формули I або її енантіомеру, або суміші її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятної солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу в комбінації (наприклад, до, під час або після) зі звичайним лікуванням, що включають без обмеження хірургічне лікування, імунотерапію, біологічну терапію, променеву терапію або іншу не медикаментозну терапію, застосовувану в цей час для лікування, попередження або ведення пацієнтів, які страждають на рак. Комбіноване застосування сполуки за даним винаходом й звичайної терапії може забезпечити схему лікування, що не має аналогів, яка виявила несподіваний ефект в певних пацієнтів. Без обмеження теорією, вважається, що сполука формули I може забезпечити додаткові або синергічні ефекти при введенні одночасно зі звичайним лікуванням.

Як обговорюється в інших розділах даного опису, даний винахід включає спосіб зменшення, лікування і/або запобігання побічних або небажаних ефектів, пов'язаних зі звичайним лікуванням, включаючи без обмеження хірургічне лікування, хіміотерапію, променеву терапію, гормональну терапію, біологічну терапію й імунотерапію. Сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристалу, клатрат або поліморф і інший активний інгредієнт можуть уводитися пацієнту до, під час або після виникнення побічного ефекту, пов'язаного зі звичайним лікуванням.

В одному варіанті здійснення, сполука формули I може вводиться в кількості в діапазоні від приблизно 0,1 до приблизно 150 мг, від приблизно 1 до приблизно 25 мг або від приблизно 2 до приблизно 10 мг перорально й один раз на день окремо або в комбінації із другим активним засобом, описаним у даній заявці (див., наприклад, розділ 4.3), до, під час або після застосування звичайного лікування.

У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф і доксетаксол уводяться пацієнту з недрібноклітинним раком легенів, який раніше одержував лікування carbo/VP 16 (карбоплатином з вепезидом) і променевою терапією.

5.6.2 Застосування із трансплантаційною терапією

Сполука формули I за даним винаходом може застосовуватися для зниження ризику хвороби трансплантат проти хазяїна (GVHD). Тому, даний винахід включає спосіб лікування, попередження і/або ведення страждаючого на рак пацієнта, який включає введення сполуки формули I або її енантіомеру, або суміші її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятної солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу в комбінації із трансплантаційною терапією.

Як зрозуміло фахівцям у даній галузі, лікування раку часто основане на стадіях і механізмі захворювання. Наприклад, оскільки на певних стадіях раку неминуче розвивається лейкозна трансформація, то може бути необхідна трансплантація стовбурових клітин периферичної крові, препарату гематопоетичних стовбурових клітин або кісткового мозку. Комбіноване застосування

сполуки формули I за даним винаходом й трансплантаційної терапії забезпечує несподіваний синергізм, який не має аналогів. Зокрема, сполука формули I проявляє імунomodulatory активність, яка може забезпечити адитивні або синергічні ефекти при введенні одночасно із трансплантаційною терапією в пацієнтів, які страждають на рак.

5 Сполука формули I може діяти в комбінації із трансплантаційною терапією, зменшуючи ускладнення, пов'язані з інвазивною процедурою трансплантації, і ризик GVHD. Даний винахід включає спосіб лікування, попередження і/або ведення страждального на рак пацієнта, який
10 включає введення пацієнту (наприклад, людині) сполуки формули I або її енантіомеру, або суміші її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятної солі, сольову, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу до, під час або після трансплантації крові пупкового канатика, плацентарної крові, стовбурових клітин периферичної крові, препарату гематопоетичних стовбурових клітин або кісткового мозку. Деякі приклади стовбурових клітин, придатних для застосування в способах за даним винаходом, описані в патенті США № 7498171, опис якого повністю включений в дану заявку шляхом посилання.

15 В одному варіанті здійснення, сполука формули I вводиться пацієнтам із множинною мієломою до, під час або після трансплантації аутологічних клітин-попередників периферичної крові.

В іншому варіанті здійснення, сполука формули I вводиться пацієнтам з рецидивуючою множинною мієломою після трансплантації стовбурових клітин.

20 У ще одному варіанті здійснення, сполука формули I і преднізон вводяться як підтримуючого лікування пацієнтам із множинною мієломою після трансплантації аутологічних стовбурових клітин.

У ще одному варіанті здійснення, сполука формули I і дексаметазон вводяться як невідкладна терапія для зниження ризику посттрансплантаційних ускладнень пацієнтам із
25 множинною мієломою.

У ще одному варіанті здійснення, сполука формули I і дексаметазон вводяться як підтримуюча терапія пацієнтам із множинною мієломою після трансплантації аутологічного кісткового мозку.

У ще одному варіанті здійснення, сполука формули I вводиться після введення високої дози мелфалану й трансплантації аутологічних стовбурових клітин пацієнтам із множинною
30 мієломою, у яких ефективна хіміотерапія.

У ще одному варіанті здійснення, сполука формули I і ПЕГ ІНТРО-А вводяться як підтримуюча терапія пацієнтам із множинною мієломою після трансплантації аутологічних експресуючих CD34 стовбурових клітин периферичної крові.

35 У ще одному варіанті здійснення, сполука формули I вводиться з посттрансплантаційною консолідувальною хіміотерапією пацієнтам зі знову діагностованою множинною мієломою для оцінки анти-ангіогенезу.

У ще одному варіанті здійснення, сполука формули I і дексаметазон вводяться як підтримуюча терапія після консолідації хіміотерапією за схемою DCEP після лікування високою
40 дозою мелфалану й трансплантації стовбурових клітин периферичної крові пацієнтам із множинною мієломою у віці 65 років і старше.

В одному варіанті здійснення, сполука формули I вводиться пацієнтам з NHL (наприклад, DLBCL) до, під час або після трансплантації аутологічних клітин-попередників периферичної крові.

45 В іншому варіанті здійснення, сполука формули I вводиться пацієнтам з NHL (наприклад, DLBCL) після трансплантації стовбурових клітин.

5.6.3 Циклічна терапія

У певних варіантах здійснення, профілактичні або терапевтичні засоби за даним винаходом циклічно вводяться пацієнту. Циклічна терапія включає введення активного засобу протягом
50 деякого періоду часу з наступною перервою протягом деякого періоду часу й повторення цього послідовного введення. Циклічна терапія може зменшити розвиток стійкості до одного або декількох видів лікування, уникнути або зменшити побічні ефекти одного з видів лікування і/або підвищує ефективність лікування.

Отже, у певних варіантах здійснення, сполука формули I за даним винаходом вводиться
55 щодня в одній або дробових дозах чотири- або шеститижневим циклом з перервою введення протягом приблизно одного тижня або двох тижнів. Спосіб циклічного лікування, крім того, забезпечує можливість збільшення частоти, числа й тривалості циклів введення. Таким чином, у певних варіантах здійснення даний винахід включає введення сполуки за даним винаходом, наприклад, сполуки формули I, або її енантіомеру, або суміші її енантіомерів, або її
60 фармацевтично прийнятної солі, сольову, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу,

протягом більшого числа циклів, ніж звичайно, коли сполука вводиться окремо. У певних варіантах здійснення, сполука за даним винаходом, наприклад, сполука формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятна сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф вводиться протягом більшого числа циклів, що звичайно викликало б обмежуючу дозу токсичності у пацієнта, якому також не вводиться другий активний інгредієнт.

В одному варіанті здійснення, сполука формули I вводиться щодня й безупинно протягом трьох або чотирьох тижнів у дозі від приблизно 0,1 до приблизно 150 мг/д з наступною перервою протягом однієї або двох тижнів.

В іншому варіанті здійснення, сполука формули I і другий активний інгредієнт вводяться перорально, причому введення сполуки формули I відбувається за 30-60 хвилин до введення другого активного інгредієнта, протягом циклу від чотирьох до шести тижнів. У певних варіантах здійснення, комбінація сполуки формули I і другого активного інгредієнта вводиться внутрішньовенною інфузією протягом приблизно 90 хвилин у кожний цикл. У певних варіантах здійснення, один цикл включає введення від приблизно 0,1 до приблизно 150 мг/день сполуки формули I і від приблизно 50 до приблизно 200 мг/м²/день другого активного інгредієнта щодня протягом від трьох до чотирьох тижнів і потім перерва протягом одного або двох тижнів. У певних варіантах здійснення, число циклів, протягом яких проводиться комбіноване лікування пацієнта, знаходиться в діапазоні від приблизно одного до приблизно 24 циклів, від приблизно двох до приблизно 16 циклів або від приблизно чотирьох до приблизно трьох циклів.

5.7 Фармацевтичні композиції й лікарські форми

В одному варіанті здійснення, даний винахід стосується фармацевтичних композицій і лікарських форм, які містять сполуку формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф. В іншому варіанті здійснення, фармацевтичні композиції й лікарські форми, крім того, містять один або декілька ексципієнтів.

У певних варіантах здійснення, фармацевтичні композиції й лікарські форми за даним винаходом також містять один або декілька додаткових активних інгредієнтів. Отже, фармацевтичні композиції й лікарські форми за даним винаходом містять сполуку формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф, і другий активний засіб. Приклади необов'язкових других, або додаткових, активних інгредієнтів описані в даній заявці (див., наприклад, розділ 4.3).

Окремі стандартні лікарські форми за даним винаходом придатні для перорального, трансмукозального (наприклад, інтраназального, сублінгвального, вагінального, букального або ректального), парентерального (наприклад, підшкірного, внутрішньовенного, болюсного ін'єкційного, внутрішньом'язового або внутрішньоартеріального), топічного (наприклад, у вигляді очних крапель або інших офтальмологічних препаратів), трансдермального або черезшкірного введення пацієнту. Приклади лікарських форм включають без обмеження: таблетки; капсулоподібні таблетки; капсули, такі як м'які еластичні желатинові капсули; крохмальні капсули; пастилки; облатки; дисперсії; супозиторії; порошки; аерозолі (наприклад, назальні спреї або інгалятори); гелі; рідкі лікарські форми, придатні для перорального й трансмукозального введення пацієнту, включаючи суспензії (наприклад, водні або неводні рідкі суспензії, емульсії масла у воді або рідкі емульсії води в маслі), розчини й еліксири; рідкі лікарські форми, придатні для парентерального введення пацієнту; очні краплі або інші офтальмологічні препарати, придатні для топічного введення; і стерильні тверді речовини (наприклад, кристалічні або аморфні тверді речовини), вологовміст яких може бути відновлений, для одержання рідких лікарських форм, придатних для парентерального введення пацієнту.

Композиція, форма й тип лікарських форм за даним винаходом можуть варіюватися залежно від їхнього застосування. Наприклад, лікарська форма, застосовувана при невідкладному лікуванні захворювання, може містити більші кількості одного або декількох активних інгредієнтів, ніж лікарська форма, застосовувана при тривалому лікуванні того ж захворювання. Аналогічним чином, парентеральна лікарська форма може містити менші кількості одного або декількох активних інгредієнтів, ніж пероральна лікарська форма, застосовувана для лікування того ж захворювання. Див., наприклад, посібник Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990).

Те, чи придатний конкретний ексципієнт для включення у фармацевтичну композицію або лікарську форму за даним винаходом, залежить від різноманітних факторів, включаючи без обмеження шлях введення. Наприклад, пероральні лікарські форми, такі як таблетки, можуть містити ексципієнти, непридатні для використання в парентеральних лікарських формах.

Придатність конкретного ексципієнта може також залежати від певних активних інгредієнтів у лікарській формі. Наприклад, руйнування деяких активних інгредієнтів може бути прискорене деякими ексципієнтами, такими як лактоза, або при впливі води. Активні інгредієнти, які включають первинні або вторинні аміни, особливо сприйнятливі до такого прискореного руйнування. Отже, даний винахід включає фармацевтичні композиції й лікарські форми, які містять небагато, якщо взагалі містять, лактози. Використовуваний у даному описі термін "яка не містить лактозу" означає, що кількість присутньої лактози, якщо вона взагалі міститься, недостатня для істотного збільшення швидкості руйнування активного інгредієнта.

Композиції за даним винаходом, які не містять лактозу, можуть містити ексципієнти, які перераховані, наприклад, у Фармакопеї США (USP) 25-NF20 (2002). У певних варіантах здійснення композиції, що не містять лактозу, містять активні інгредієнти, зв'язувальний агент/наповнювач і мастильну речовину у фармацевтично сумісних і фармацевтично прийнятних кількостях. У певних варіантах здійснення лікарські форми, що не містять лактозу, містять активні інгредієнти, мікрокристалічну целюлозу, прежелатинізований крохмаль і стеарат магнію.

Крім того, даний винахід включає безводні фармацевтичні композиції й лікарські форми, що містять активні інгредієнти, оскільки вода може сприяти руйнуванню деяких сполук. Наприклад, додавання води (наприклад, 5 %) широко прийняте у фармацевтичних галузях як засіб сприяння тривалому зберіганню для визначення таких характеристик як тривалість зберігання або стійкість препаративних форм протягом часу. Див., наприклад, Jens T. Carstensen, Drug Stability: Principles & Practice, 2d. Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, pp. 379-80. У дійсності, вода й тепло прискорюють руйнування деяких сполук. Таким чином, вплив води на препаративну форму може мати велике значення, оскільки волога і/або вологість звичайно впливають під час виробництва, маніпулювання, упакування, зберігання, транспортування й застосування препаративних форм.

Безводні фармацевтичні композиції й лікарські форми за даним винаходом можуть бути отримані з використанням безводних інгредієнтів або інгредієнтів з низьким вмістом вологи й в умовах низького вмісту вологи або низької вологості. Фармацевтичні композиції й лікарські форми, які містять лактозу й щонайменше один активний інгредієнт, що містить первинний або вторинний амін, є переважно безводними, якщо очікується істотний контакт із вологою і/або вологістю під час виробництва, упакування і/або зберігання.

Безводна фармацевтична композиція повинна бути отримана й зберігатися так, щоб зберігалася її безводна природа. Відповідно, у певних варіантах здійснення, даний винахід стосується безводних композицій, упакованих з використанням матеріалів, які відвертають вплив води, для того, щоб вони могли бути включені в придатні запропоновані правилами набори. Приклади придатних пакувальних матеріалів включають без обмеження герметично запаяні упаковки з фольги, пластику, контейнери для стандартних лікарських форм (наприклад, флакони), блістерні упаковки й стрічкові упаковки.

Даний винахід включає фармацевтичні композиції й лікарські форми, які містять одну або декілька сполук, знижують швидкість, з якою буде руйнуватися активний інгредієнт. Такі сполуки, які в даному описі називаються "стабілізаторами", включають без обмеження антиоксиданти, такі як аскорбінова кислота, буфери, що підтримують водневий показник, або сольові буфери.

Подібно до кількостей і типів ексципієнтів, кількості й певні типи активних інгредієнтів у лікарській формі можуть відрізнятися залежно від таких факторів як без обмеження шлях, яким вона має бути введена пацієнтам. У певних варіантах здійснення, лікарські форми за даним винаходом містять сполуку формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф, у кількості в діапазоні від приблизно 0,10 до приблизно 1000 мг, від приблизно 0,10 до приблизно 500 мг, від приблизно 0,10 до приблизно 200 мг, від приблизно 0,10 до приблизно 150 мг, від приблизно 0,10 до приблизно 100 мг або від приблизно 0,10 до приблизно 50 мг. У певних варіантах здійснення, лікарські форми за даним винаходом містять сполуку формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф, у кількості приблизно 0,1, приблизно 1, приблизно 2, приблизно 5, приблизно 7,5, приблизно 10, приблизно 12,5, приблизно 15, приблизно 17,5, приблизно 20, приблизно 25, приблизно 50, приблизно 100, приблизно 150 або приблизно 200 мг.

5.7.1 Пероральні лікарські форми

У певних варіантах здійснення, фармацевтичні композиції за даним винаходом, які придатні для перорального введення, складаються у вигляді окремих лікарських форм, приклади яких включають без обмеження таблетки (наприклад, жувальні таблетки), капсуловидні таблетки,

капсули й рідини (наприклад, ароматизовані сиропи). Такі лікарські форми містять задані кількості активних інгредієнтів і можуть бути отримані деякими відомими у фармацевції способами. Див. у цілому посібник Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990).

У певних варіантах здійснення, пероральні лікарські форми за даним винаходом одержують об'єднанням активних інгредієнтів у ретельній суміші щонайменше з одним ексципієнтом, відповідно до звичайних фармацевтичних технологій змішання. Ексципієнти можуть приймати широку різноманітність форм, залежно від форми препарату, бажаної для введення. Наприклад, ексципієнти, придатні для використання в пероральних рідких або аерозольних лікарських формах, включають без обмеження воду, гліколі, масла, спирти, ароматизуючі агенти, консерванти й фарбувальні агенти. Приклади ексципієнтів, придатних для використання у твердих пероральних лікарських формах (наприклад, порошках, таблетках, капсулах і капсулоподібних таблетках), включають без обмеження крохмалі, цукри, мікрокристалічну целюлозу, розріджувачі, гранулюючі агенти, мастильні речовини, зв'язувальні речовини й розпушувачі.

Через легкість їх уведення, таблетки й капсули представляють найбільш переважні пероральні стандартні лікарські форми, і в цьому випадку використовуються тверді ексципієнти. При бажанні, таблетки можуть бути покриті стандартними водними або неводними технологіями. Такі лікарські форми можуть бути отримані деякими відомими у фармацевції способами. У певних варіантах здійснення, фармацевтичні композиції й лікарські форми одержують однорідним і ретельним змішуванням активних інгредієнтів з рідкими носіями, тонко подрібненими твердими носіями або обома зазначеними інгредієнтами й потім при необхідності профілюванням продукту в бажану лікарську форму.

У певних варіантах здійснення, таблетку одержують пресуванням або формуванням. У певних варіантах здійснення, пресовані таблетки одержують пресуванням у прийнятній машині активних інгредієнтів у вільно текучій формі, наприклад, порошку або гранул, необов'язково, змішаних з ексципієнтом. У певних варіантах здійснення, формовані таблетки можуть бути отримані формуванням у прийнятній машині суміші порошкоподібної сполуки, змоченої інертним рідким розріджувачем.

Приклади ексципієнтів, які можуть використовуватися в пероральних лікарських формах за даним винаходом, включають без обмеження зв'язувальні агенти, наповнювачі, розпушувачі й мастильні речовини. Зв'язувальні агенти, придатні для використання у фармацевтичних композиціях і лікарських формах за даним винаходом, включають без обмеження кукурудзяний крохмаль, картопляний крохмаль або інші крохмалі, желатин, натуральні й синтетичні смоли, такі як акація, альгінат натрію, альгінова кислота, інші альгірати, порошкоподібний трагакант, кізельгур, целюлоза і її похідні (наприклад, етилцелюлоза, ацетат целюлози, карбоксиметилцелюлоза кальцію, карбоксиметилцелюлоза натрію), полівінілпіролідон, метилцелюлоза, прежелатинізований крохмаль, гідроксипропілметилцелюлоза (наприклад, №№ 2208, 2906, 2910), мікрокристалічна целюлоза і його суміші.

Прийнятні форми мікрокристалічної целюлози включають без обмеження АБІЦЕЛ-РН-101, АБІЦЕЛ-РН-103, АБІЦЕЛ RC-581, АБІЦЕЛ-РН-105 (FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, PA) і їх суміші. Певна зв'язувальна речовина являє собою суміш мікрокристалічної целюлози й карбоксиметилцелюлози натрію (наприклад, АБІЦЕЛ RC-581). Придатні безводні або які мають низький вміст води ексципієнти або добавки включають АБІЦЕЛ-РН-103™ і Крохмаль 1500 LM.

Приклади наповнювачів, придатних для використання у фармацевтичних композиціях і лікарських формах за даним винаходом, включають без обмеження тальк, карбонат кальцію (наприклад, гранули або порошки), мікрокристалічну целюлозу, порошкоподібну целюлозу, декстрати, каолін, маніт, саліцилову кислоту, сорбіт, крохмаль, прежелатинізований крохмаль і їх суміші. У певних варіантах здійснення зв'язувальна речовина або наповнювач у фармацевтичних композиціях за даним винаходом присутня в кількості від приблизно 50 до приблизно 99 % мас. фармацевтичної композиції або лікарської форми.

Розпушувачі використовують у композиціях за даним винаходом для одержання таблеток, здатних до руйнування при впливі водного середовища. Таблетки, які містять занадто багато розпушувача, можуть руйнуватися при зберіганні, тоді як ті, які містять занадто мало розпушувача, можуть не руйнуватися з бажаною швидкістю або в бажаних умовах. Таким чином, достатня кількість розпушувача, яка є ні занадто великою, ні занадто малою для несприятливої зміни вивільнення активних інгредієнтів, повинна використовуватися для утворення твердих пероральних лікарських форм за даним винаходом. Кількість використовуваного розпушувача варіюється на основі типу препаративної форми. У певних

варіантах здійснення, фармацевтичні композиції за даним винаходом містять від приблизно 0,5 до приблизно 15 мас. % від приблизно 1 до приблизно 5 мас. % розпушувача.

Розпушувачі, які придатні для використання у фармацевтичних композиціях і лікарських формах за даним винаходом, включають без обмеження агар-агар, альгінову кислоту, карбонат кальцію, мікрокристалічну целюлозу, кроскармелозу натрію, кросповідон, полакрилін калію, гліколятокромаль натрію, крохмаль із картоплі або тапіоки, інші крохмалі, прежелатинізований крохмаль, інші крохмалі, глини, інші альгіни, інші целюлози, смоли і їх суміші.

Мастильні речовини, які придатні для використання у фармацевтичних композиціях і лікарських формах за даним винаходом, включають без обмеження стеарат кальцію, стеарат магнію, мінеральне масло, легке мінеральне масло, гліцерин, сорбіт, маніт, поліетиленгліколь, інші гліколи, стеаринову кислоту, лаурилсульфат натрію, тальк, гідрогенізовану рослинну олію (наприклад, арахісову олію, олія насіння бавовнику, олію соняшника, кунжутну олію, оливкову олію, кукурудзяну олію й соєву олію), стеарат цинку, етилолеат, етиллаурат, агар і їх суміші. Додаткові мастильні речовини включають без обмеження силоїдний силікагель (АЕРОСИЛ200, W.R. Grace Co., Baltimore, MD), коагульований аерозоль синтетичного діоксиду кремнію (Degussa Co. of Plano, TX), CAB-O-SIL (пірогенний діоксид кремнію, Cabot Co. of Boston, MA) і їх суміші. У певних варіантах здійснення мастильні речовини, якщо вони взагалі використовуються, містяться в кількості менше ніж приблизно 1 мас. % фармацевтичних композицій або лікарських форм, у які вони включені.

У певних варіантах здійснення, даний винахід стосується твердої пероральної лікарської форми, що містить сполуку формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф; і один або декілька ексципієнтів, вибраних з безводної лактози, мікрокристалічної целюлози, полівінілпіролідону, стеаринової кислоти, колоїдного безводного діоксиду кремнію й желатину.

У певних варіантах здійснення, даний винахід стосується твердої пероральної лікарської форми, що містить сполуку формули I або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятної солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу й безводної лактози, мікрокристалічної целюлози, полівінілпіролідону, стеаринової кислоти, колоїдного безводного діоксиду кремнію, і желатину.

У певних варіантах здійснення, даний винахід стосується твердої пероральної лікарської форми, що містить гідрохлорид сполуки формули I, або її енантіомер, або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф, і один або декілька ексципієнтів, вибраних з безводної лактози, мікрокристалічної целюлози, полівінілпіролідону, стеаринової кислоти, колоїдного безводного діоксиду кремнію й желатину.

У певних варіантах здійснення, даний винахід стосується твердої пероральної лікарської форми, що містить гідрохлорид сполуки формули I, або її енантіомер або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф, і безводну лактозу, мікрокристалічну целюлозу, полівінілпіролідон, стеаринову кислоту, колоїдний безводний діоксид кремнію й желатин.

5.7.2 Лікарські форми з відстроченим вивільненням

У певних варіантах здійснення, активні інгредієнти за даним винаходом вводяться засобами контрольованого вивільнення або обладнаннями доставки. Приклади включають без обмеження ті, які описані в патентах США №№ 3845770; 3916899; 3536809; 3598123; 4008719, 5674533, 5059595, 5591767, 5120548, 5073543, 5639476, 5354556 і 5733566, кожний з яких повністю включений у даний опис шляхом посилання. У певних варіантах здійснення, такі лікарські форми застосовуються для забезпечення повільного або контрольованого вивільнення одного або декількох активних інгредієнтів з використанням, наприклад, гідропропілметилцелюлози, інших полімерних матриць, гелів, проникних мембран, осмотичних систем, багатошарових покриттів, мікрочастинок, ліпосом, мікросфер або їх комбінації для забезпечення бажаного профілю вивільнення у варіюваних пропорціях. Даний винахід включає окремі стандартні лікарські форми, придатні для перорального введення, включаючи без обмеження таблетки, капсули, желатинові капсули й капсулоподібні таблетки, які пристосовані для контрольованого вивільнення.

Усі фармацевтичні продукти контрольованого вивільнення мають загальну мету поліпшення медикаментозної терапії відносно тієї, яка досягається їхніми аналогами не контрольованого вивільнення. В ідеалі, застосування оптимальне сконструйованого препарату контрольованого вивільнення при медикаментозному лікуванні характеризується мінімальною кількістю використовуваної лікарської субстанції для лікування або припинення прогресування патологічного стану пацієнта за мінімальну кількість часу. Переваги препаративних форм із контрольованим вивільненням включають тривалу активність лікарського засобу, знижену

частоту введення й підвищене дотримання пацієнтом запропонованої схеми введення. Крім того, препаративні форми з контрольованим вивільненням можуть застосовуватися для впливу на час початку дії або інші характеристики, такі як рівні лікарського засобу в крові, і, таким чином, можуть впливати на виникнення побічних (наприклад, несприятливих) ефектів.

Більшість препаративних форм із контрольованим вивільненням призначені для первинного вивільнення деякої кількості лікарського засобу (активного інгредієнта), який швидко викликає бажаний терапевтичний ефект, і поступового й безперервного вивільнення інших кількостей лікарського засобу для підтримки цього рівня терапевтичного або профілактичного ефекту протягом тривалого періоду часу. Для підтримки цього постійного рівня лікарського засобу в організмі лікарський засіб повинен вивільнятися з лікарської форми зі швидкістю, яка замінить кількість метаболізованого й виділеного з організму лікарського засобу. Контрольоване вивільнення активного інгредієнта може стимулюватися різними умовами, включаючи без обмеження рН, температуру, ферменти, воду або інші фізіологічні умови або сполуки.

5.7.3 Парентеральні лікарські форми

Парентеральні лікарські форми можуть вводитися пацієнтам різними шляхами, включаючи без обмеження підшкірне, внутрішньовенне (включаючи болюсну ін'єкцію), внутрішньом'язове й внутрішньоартеріальне введення. Через те, що при парентеральному введенні лікарські форми звичайно обходять природні захисні механізми організму пацієнтів проти заражувальних і забруднюючих агентів, парентеральні лікарські форми є переважно стерильними або придатними для стерилізації перед введенням пацієнту. Приклади парентеральних лікарських форм включають без обмеження розчини, готові для ін'єкції, сухі продукти, готові для розчинення або суспендування у фармацевтично прийнятній основі для ін'єкції, суспензії, готові для ін'єкції й емульсії.

Деякі придатні основи, які можуть використовуватися для одержання парентеральних лікарських форм за даним винаходом, включають без обмеження: воду для ін'єкцій по Фармакопеї США; водні основи, такі як без обмеження розчин хлориду натрію для ін'єкцій, розчин Рінгера для ін'єкцій, розчин декстрази для ін'єкцій, розчин декстрази й хлориду натрію для ін'єкцій і розчин Рінгер лактат для ін'єкцій; основи, що змішуються з водою, такі як без обмеження етиловий спирт, поліетиленгліколь і поліпропіленгліколь; неводні основи, такі як без обмеження кукурудзяна олія, олія насіння бавовнику, арахісова олія, кунжутна олія, етилолеат, ізопропілміристан і бензилбензоат.

Сполуки, які збільшують розчинність одного або декількох активних інгредієнтів, описаних у даній заявці, можуть бути також включені в парентеральні лікарські форми за даним винаходом. Наприклад, циклодекстрин і його похідні можуть використовуватися для збільшення розчинності сполуки за даним винаходом, наприклад, сполуки формули I, або її енантіомеру, або суміші її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятної солі, сольвату, гідрату, співкристалу, клатрату або поліморфу. Див., наприклад, патент США № 5134127, опис якого повністю включений в дану заявку шляхом посилання.

5.7.4 Топічні й трансмукозальні лікарські форми

Топічні й трансмукозальні лікарські форми за даним винаходом включають без обмеження спреї, аерозолі, розчини, емульсії, суспензії, очні краплі або інші очні препарати, або їх форми, відомі фахівцям в даній галузі. Див., наприклад, посібник Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th and 18th eds. Mack Publishing, Easton PA (1980 & 1990); і Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 4th ed., Lea & Febiger, Philadelphia (1985). Лікарські форми, придатні для лікування тканин слизових оболонок усередині ротової порожнини, можуть бути складені у вигляді розчинів для полоскання ротової порожнини або у вигляді гелів для ротової порожнини.

Прийнятні ексципієнти (наприклад, носії або розріджувачі) і інші матеріали, які можуть використовуватися для одержання топічних і трансмукозальних лікарських форм, включених у даний винахід, залежать від конкретної тканини, на яку буде наноситися дана фармацевтична композиція або лікарська форма. Враховуючи це, у певних варіантах здійснення, ексципієнти включають без обмеження воду, ацетон, етанол, етиленгліколь, пропіленгліколь, бутан-1,3-діол, ізопропілміристан, ізопропілпальмітат, мінеральне масло і їх суміші для утворення розчинів, емульсій або гелів, які є нетоксичними й фармацевтично прийнятними. При бажанні, до фармацевтичних композицій і лікарських форм можуть також додаватися змочувальні агенти або зволожувачі. Додаткові приклади таких інгредієнтів можна знайти, наприклад, у посібнику Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th and 18th eds., Mack Publishing, Easton PA (1980 & 1990).

рН фармацевтичної композиції або лікарської форми може також регулюватися для поліпшення доставки одного або декількох активних інгредієнтів. Аналогічним чином, можуть регулюватися полярність розчинника-носія, його іонна сила або тоничність для поліпшення

доставки. Такі сполуки як стеарати також можуть додаватися до фармацевтичних композицій або лікарських форм для сприятливої зміни гідрофільності або ліпофільності одного або декількох активних інгредієнтів для того, щоб поліпшити доставку. Відносно цього, стеарати можуть служити як ліпідна основа для препаративної форми, як емульгуючий агент або

5 поверхнево-активна речовина й як посилюючий доставку або посилюючий проникнення агент. Різні солі, гідрати або сольвати активних інгредієнтів можуть використовуватися для додаткового доведення властивостей отриманої в результаті композиції.

5.7.5 Набори

У певних варіантах здійснення, активні інгредієнти за даним винаходом не вводяться пацієнту в той самий час або однаковим шляхом введення. Тому, даний винахід стосується наборів, які при використанні медичним працівником можуть спростити введення пацієнту відповідних кількостей активних інгредієнтів.

У певних варіантах здійснення, набір за даним винаходом включає лікарську форму сполуки за даним винаходом, наприклад, сполуку формули I, або її енантіомер або суміш її енантіомерів, або її фармацевтично прийнятну сіль, сольват, гідрат, співкристал, клатрат або поліморф. У певних варіантах здійснення, набір за даним винаходом, крім того, включає додаткові активні інгредієнти, такі як облімерсен (ГЕНАСЕНС®), мелфалан, G-CSF, GM-CSF, ЕРО, топотекан, дакарбазин, іринотекан, таксотере, IFN, інгібітор COX-2, пентоксифілін, цiproфлосаксин, дексаметазон, IL2, IL8, IL18, Ага-С, вінорелбін, ізотретиноїн, 13 цис-ретиноева

15 кислота або їх фармакологічно активний мутант або похідне, або їх комбінацію. Приклади додаткових активних інгредієнтів включають без обмеження ті, які описані в даній заявці (див., наприклад, розділ 4.3).

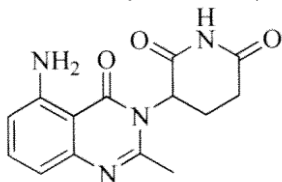
У певних варіантах здійснення, набір за даним винаходом додатково включає обладнання, яке використовується для введення активних інгредієнтів. Приклади таких обладнань включають без обмеження шприци, крапельниці, трансдермальні системи й інгалятори.

У певних варіантах здійснення, набір за даним винаходом додатково включає клітини або кров для трансплантації, а також фармацевтично прийнятні основи, які можуть застосовуватися для введення одного або декількох активних інгредієнтів. Наприклад, якщо активний інгредієнт представлений у твердій формі, вологовміст якої повинен відновлюватися для парентерального введення, то набір може включати герметично закупорений контейнер з прийнятною основою, у якій може бути розчинений активний інгредієнт, для утворення позбавленого частинок стерильного розчину, який придатний для парентерального введення. Приклади фармацевтично прийнятних основ включають без обмеження: воду для ін'єкцій по Фармакопеї США; водні основи, такі як без обмеження розчин хлориду натрію для ін'єкцій, розчин Рінгера для ін'єкцій, розчин декстрази для ін'єкцій, розчин декстрази й хлориду натрію для ін'єкцій і розчин Рінгер лактат для ін'єкцій; основи, що змішуються з водою, такі як без обмеження етиловий спирт, поліетиленгліколь і поліпропіленгліколь; і неводні основи, такі як без обмеження кукурудзяна олія, олія насіння бавовнику, арахісова олія, кунжутна олія, етилолеат, ізопропілмірістат і бензилбензоат.

6. Приклади

Певні варіанти здійснення винаходи ілюструються наступними не обмежуваними прикладами.

6.1 Одержання 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону



Стадія 1: До розчину гідроксиду калію (16,1 г, 286 ммоль) у воді (500 мл) порціями додавали 3-нітрофталімід (25,0 г, 130 ммоль) при 0°C. Суспензію перемішували при 0°C протягом 3 годин і потім нагрівали до 30°C протягом 3 годин. До розчину додавали HCl (100 мл, 6N). Отриману суспензію охолоджували до 0°C протягом 1 години. Суспензію фільтрували й промивали холодною водою (2 × 10 мл) для одержання 3-нітрофталевої кислоти у вигляді білої твердої речовини (24,6 г, вихід 90 %): ¹H ЯМР (DMSO-d₆) δ 7,69 (шир. с, 1H, NHH), 7,74 (т, J=8 Гц, 1H, Ar), 7,92 (дд, J=1, 8 Гц, 1H, Ar), 8,13 (дд, J=1, 8 Гц, 1H, Ar), 8,15 (шир. с, 1H, NHH), 13,59 (с, 1H, OH); ¹³C ЯМР (DMSO-d₆) δ 125,33, 129,15, 130,25, 132,54, 136,72, 147,03, 165,90, 167,31.

Стадія 2: До суміші 3-нітрофталевої кислоти (24,6 г, 117 ммоль) і гідроксиду калію (6,56 г, 117 ммоль) у воді (118 мл) додавали суміш бром (6 мл), гідроксиду калію (13,2 г, 234 ммоль) у воді (240 мл) при 0°C, з наступним додаванням розчину гідроксиду калію (1,8 г, 351 ммоль) у

воді (350 мл). Після 5 хвилин при 0°C, суміш нагрівали на масляній бані при 100°C протягом 1 години. Реакційний розчин охолоджували до кімнатної температури й потім на бані із крижаною водою протягом 30 хвилин. До суміші по краплях додавали розчин HCl (240 мл, 2N) при 0°C, і отриману суміш витримували протягом 1 години. Суспензію фільтрували й промивали водою (5

мл) для одержання 6-нітробензойної кислоти у вигляді жовтої твердої речовини (15,6 г, вихід 73 %): ВЕРХ: Waters Symmetry C₁₈, 5 мкм, 3,9 × 150 мм, 1 мл/хв. 240 нм, CH₃CN/0,1 % H₃PO₄, від 5 % поступово до 95 % протягом 5 хв, 5,83 хв (85 %); ¹H ЯМР (DMSO-d₆) δ 6,90 (дд, J=1, 8 Гц, 1H, Ar), 7,01 (дд, J=1, 9 Гц, 1H, Ar), 7,31 (т, J=8 Гц, 1H, Ar), 8,5-9,5 (шир. с, 3H, OH, NH₂); ¹³C ЯМР (DMSO-d₆) δ 105,58, 110,14, 120,07, 131,74, 149,80, 151,36, 166,30; РХ-МС: МН=183.

Стадія 3: Суміш 6-нітробензойної кислоти (1,5 г, 8,2 ммоль) в оцтовому ангідриді (15 мл) нагрівали при 200°C протягом 30 хвилин у мікрохвильовій печі. Суміш фільтрували й промивали етилацетатом (20 мл). Фільтрат концентрували у вакуумі. Тверду речовину перемішували в простому ефірі (20 мл) протягом 2 годин. Суспензію фільтрували й промивали простим ефіром (20 мл) для одержання 2-метил-5-нітро-бензо[d][1,3]оксазин-4-ону у вигляді світло-коричневої

твердої речовини (1,4 г, вихід 85 %): ВЕРХ: Waters Symmetry C₁₈, 5 мкм, 3,9 × 150 мм, 1 мл/хв, 240 нм. CH₃CN/0,1 % H₃PO₄, від 5 % поступово до 95 % за 5 хв, 5,36 хв (92 %); ¹H ЯМР (DMSO-d₆) δ 2,42 (с, 3H, CH₃), 7,79 (дд, J=1, 8 Гц, 1H, Ar), 7,93 (дд, J=1, 8 Гц, 1H, Ar), 8,06 (т, J=8 Гц, 1H, Ar); ¹³C ЯМР (DMSO-d₆) δ 20,87, 107,79, 121,54, 128,87, 137,19, 147,12, 148,46, 155,18, 161,78; РХ-МС: МН=207.

Стадія 4: Два флакони із суспензією 5-нітро-2-метил-бензо[d][1,3]оксазин-4-ону (0,60 г, 2,91 ммоль), що міститься в кожному з них, і гідрохлориду 3-аміно-піперидин-2,6-діону (0,48 г, 2,91 ммоль) у піридині (15 мл) нагрівали при 170°C протягом 10 хвилин у мікрохвильовій печі. Суспензію фільтрували й промивали піридином (5 мл). Фільтрат концентрували у вакуумі. Отриману суміш перемішували в HCl (30 мл, 1N), етилацетаті (15 мл) і простому ефірі (15 мл) протягом 2 годин. Суспензію фільтрували й промивали водою (30 мл) і етилацетатом (30 мл) для одержання темно-коричневої твердої речовини, яку перемішували з метанолом (50 мл) при кімнатній температурі протягом ночі. Суспензію фільтрували й промивали метанолом для одержання 3-(2-метил-5-нітро-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону у вигляді чорної твердої речовини (490 мг, вихід 27 %). Тверду речовину використовували на наступній стадії без додаткового очищення.

Стадія 5: Суміш 3-(2-метил-5-нітро-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону (250 мг) і Pd(OH)₂ на вуглєці (110 мг) в DMF (диметилформаміді) (40 мл) струшували в атмосфері водню (50 фунтів/дюйм² (≈2586 мм рт. ст.)) протягом 12 годин. Суспензію фільтрували через прокладку целіту й промивали DMF (10 мл). Фільтрат концентрували у вакуумі, і отриману олію очищали колонковою флеш-хроматографією (силікагель, метанол/метилєнхлорид) для одержання 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону у вигляді білої твердої речовини (156 мг, вихід 69 %): ВЕРХ: Waters Symmetry C₁₈, 5 мкм, 3,9 × 150 мм, 1 мл/хв, 240 нм. 10/90 CH₃CN/0,1 % H₃PO₄, 3,52 хв (99,9 %); точка плавлення: 293-295°C; ¹H ЯМР (DMSO-d₆) δ 2,10-2,17 (м, 1H, CHH), 2,53 (с, 3H, CH₃), 2,59-2,69 (м, 2H, CH₂), 2,76-2,89 (м, 1H, CHH), 5,14 (дд, J=6, 11 Гц, 1H, NCH), 6,56 (д, J=8 Гц, 1H, Ar), 6,59 (д, J=8 Гц, 1H, Ar), 7,02 (с, 2H, NH₂), 7,36 (т, J=8 Гц, 1H, Ar), 10,98 (с, 1H, NH); ¹³C ЯМР (DMSO-d₆) δ 20,98, 23,14, 30,52, 55,92, 104,15, 110,48, 111,37, 134,92, 148,17, 150,55, 153,62, 162,59, 169,65, 172,57; РХ-МС: МН=287; Аналітично розраховано для C₁₄H₁₄N₄O₃+0,3 H₂O: С, 57,65; Н, 5,05; N, 19,21. Знайдено: С, 57,50; Н, 4,73; N, 19,00.

6.2 Аналізи

6.2.1 Аналіз інгібування TNFα в PMBC

Мононуклеарні клітини периферичної крові (PBMC) від здорових донорів одержують центрифугуванням у градієнті густини Ficoll Hypaque (Pharmacia, Piscataway, NJ, USA). Клітини культивують у середовищі RPMI 1640 (Life Technologies, Grand Island, N Y, USA) з додаванням 10 % АВ + людської сироватки (Gemini Bio-products, Woodland, CA, USA), 2 мМ L-глутаміну, 100

ОД/мл пеніциліну й 100 мкг/мл стрептоміцину (Life Technologies)).

PBMC (2 × 10⁵ клітин) висівали в 96-ямкові плоскодонні планшети для культури тканини Costar (Corning, NY, USA) у трьох повторях. Клітини стимулювали LPS (з Salmonella abortus equi, Sigma каталожний № L-1887. St. Louis, MO, USA) у кінцевій концентрації 1 нг/мл під час відсутності або в присутності підлягаючих тестуванню сполук. Сполуки розчиняли в DMSO (Sigma) і додаткові розведення робили в культуральному середовищі безпосередньо перед використанням. Кінцева концентрація DMSO у всіх аналізах склала приблизно 0,25 %. Сполуки додавали до клітин за 1 годину до стимуляції LPS. Потім клітини інкубували протягом 18-20 годин при 37°C в 5 % CO₂, і потім збирали супернатанти, розбавляли культуральним середовищем і аналізували для визначення рівнів TNFα ELISA (Endogen, Boston, MA, USA).

Величини IC₅₀ розраховували з використанням нелінійної регресії, сигмоїдальної кривої

"реакція-доза", обмежуючи верхню межу 100 % і нижню межу 0 %, забезпечуючи можливість варіабельного нахилу кривої (Graphpad Prism версія 3.02).

6.2.2 Інгібування проліферації лінії клітин MM

Здатність сполук впливати на проліферацію ліній клітин MM (множинної мієломи) вивчали в дослідженні *in vitro*. Захоплення [³H]-тимідину клітинами MM лінії H929 і захоплення 7-AAD декількома лініями клітин MM (H929, U266B1, Anbl-6, KMS-34, OPM-2, DF-15, DF15/R, CAG, MM1.S і LP-1) вимірювали як індикатор клітинної проліферації. Клітини інкубували в присутності сполук протягом 72 години ([³H]-тимідин включали протягом останніх 6 годин періоду інкубації) або 5 днів з наступним захопленням 7-AAD для вимірювання й підрахунку життєздатних клітин.

6.2.3 Продукція цитокінів Т клітинами

Т клітини виділяли з лейкоцитної плівки негативною селекцією, використовуючи суміш збагачення Т клітин Rosettesep® Т Cell Enrichment Cocktail. Відповідно, дотримувались процедур, рекомендованих виробником. Усі 96-ямкові планшети попередньо покривали 3 мкг/мл антитіла до людських CD3 в 100 мкл 1X PBS (сольового розчину з фосфатним буфером) протягом 4 годин при 37°C. Планшети промивали три рази повним поживним RPMI-1640 середовищем перед аналізом Т клітин. Потім Т клітини висівали в планшети, попередньо покриті CD3, при густині $2,5 \times 10^5$ клітин/ямку в 180 мкл повного поживного середовища RPMI-1640. Клітини обробляли 20 мкл титрованих в 10X сполук у концентрації 10, 1, 0,1, 0,01, 0,001, 0,0001 і 0,00001 мМ. Кінцеві концентрації DMSO склали 0,25 %. Планшети інкубували протягом 48 годин при 37°C, 5 % CO₂. Через 48 годин, супернатанти збирали й тестували мультиплексним протоковим цитометричним аналізом (CBA) для виявлення наступних цитокінів/хемокінів: IL-2, IL-3, IL-5, IL-10, IL-13, IL-15, IL-17a, GM-CSF, G-SCF, IFN-γ, TNF-α і RANTES (регульованих після активації нормальних експресованих і секретованих Т клітин). Планшети CBA аналізували на приладі Luminex IS100.

Рівні цитокінів нормалізували до кількості, яка продукується в присутності кількості тестованої сполуки, і величини EC₅₀ розраховували, використовуючи нелінійну регресію, сигмоїдальну криву "доза-реакція", обмежуючи верхню межу 100 % і нижню межу 0 %, забезпечуючи можливість варіабельного нахилу кривої (Graphpad Prism версія 3.02).

Аналіз стимульованих антитілами до CD3 Т клітин

Усі 96-ямкові планшети попередньо покривали 3 мкг/мл антитілом до людських CD3 в 100 мкл 1X PBS протягом 4 годин при 37°C. Планшети промивали 3 рази повним поживним RPMI-1640 середовищем перед аналізом Т клітин. Потім Т клітини висівали в планшети, попередньо покриті антитілом до CD3 при густині $2,5 \times 10^5$ клітин/ямку в 180 мкл повного поживного середовища RPMI-1640. Клітини обробляли 20 мкл титрованими 10X Celgene сполуками в концентрації 10, 1, 0,1, 0,01, 0,001, 0,0001 і 0,00001 мМ у двох повторях. Кінцеві концентрації DMSO становили 0,25 %. Планшети інкубували протягом 48 годин при 37°C, 5 % CO₂. Через 48 годин супернатанти збирали й тестували мультиплексним протоковим цитометричним аналізом (CBA) для виявлення наступних цитокінів/хемокінів: IL-2, IL-3, IL-5, IL-10, IL-13, IL-15, IL-17A, GM-CSF, G-SCF, IFN-γ, TNF-α і RANTES. Планшети CBA аналізували на приладі Luminex IS100.

6.2.4 Аналіз цитотоксичності

Лінії клітин Farage, DOHH2 і Rec-1 одержували з Американської Колекції Типових Культур (Manassas, VA, USA). Аналізи цитотоксичності кількісно визначали в 3-денних аналізах продукції АТФ у такий спосіб:

Клітини висівали в 96-ямкові планшети TC із чорним/прозорим дном (BD Falcon, Cat # 353948) при густині 3000 клітин/75 мкл (для клітин DoHH-2 і Farage) або 6000 клітин/75 мкл (клітини Rec-1) середовища на ямку. Основні розчини (40X) сполук одержували в DMSO і розчини 4X одержували розведенням основних розчинів 40 × 1:10 1 % DMSO у культуральному середовищі. У кожен ямку аналітичного планшета до клітин додавали 25 мкл сполуки формули I в 1 % DMSO у трьох повторях для того, щоб кінцевий об'єм склав 100 мкл і кінцева концентрація [DMSO] становила 0,25 %. Потім планшети герметично закупорювали закупорювальними плівками, які пропускають повітря (ISC Bioexpress, Cat # T-2421-50), і вміщували у зволожений інкубатор при 37°C, 5 % CO₂ на 72 години. Крім того, клітини висівали в окремий планшет у такий же спосіб як зазначено вище, у кожен ямку додавали 25 мкл середовища в 1 % DMSO. Цей планшет відразу тестували в люмінесцентному аналізі життєздатності клітин CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay (Promega, Cat # G7572) як нульову точку часу, і ці результати використовували для розрахунку GIC₅₀ в експериментах із клітинами Farage і DOHH-2.

Після 72 годин інкубації в кожен ямку додавали 100 мкл реагенту CellTiter-Glo і інкубували при кімнатній температурі при обережному струшуванні протягом 30 хвилин. Потім планшети аналізували для визначення люмінесценції в зчитувальному приладі TopCount NXT Reader (Packard). Підрахунок кожної ямки проводили протягом однієї секунди. Величини по двох ямках

усереднювали й потім порівнювали з нульовою точкою часу контролю з DMSO (інгібування 0 %) для розрахунку інгібування росту клітин у відсотках. Середні величини GIC_{50} для клітин DOHH-2 і Farage розраховували по цих трьох експериментах. Величини IC_{50} Rec-1 розраховували по двох експериментах.

5 6.2.5 Аналіз клітинного циклу

Клітини обробляли DMSO або деякою кількістю сполуки за даним винаходом протягом 48 годин. Фарбування йодидом пропідію виконували, використовуючи CycleTEST PLUS (Becton Dickinson), відповідно до протоколу виробника. Після фарбування клітини аналізували протоковим цитометром FACSCalibur, використовуючи програмне забезпечення ModFit LT (Becton Dickinson).

10 6.2.6 Аналіз апоптозу

Клітини обробляли DMSO або деякою кількістю сполуки за даним винаходом в різні точки часу, потім промивали промивним буфером анексин-V (BD Biosciences). Клітини інкубували зі зв'язуючим анексин-V білком і йодидом пропідію (BD Biosciences) протягом 10 хвилин. Зразки аналізували, використовуючи протокову цитометрію.

15 6.2.7 Аналіз NK-клітин

96-ямкові плоскодонні планшети покривали 100 мкг/мл людського IgG (Sigma) протягом ночі при 4°C. Наступного дня незв'язаний IgG змивали холодним 1X PBS. Потім NK-клітини (натуральні кілери) висівали в покриті IgG 96-ямкові планшети в кількості 2×10^5 клітин на ямку в 180 мкл середовища RPMI-1640 і додавали 10 нг/мл rhIL-2 (рекомбінантного людського інтерлейкіну-2) (R & D Systems, MN). Додавали тестовані сполуки в об'ємі 20 мкл DMSO. Кінцеві концентрації тестованих сполук становили 0,0001, 0,001, 0,01, 0,1, 1 або 10 мкМ. Кінцеві концентрації DMSO становили 0,25 %. Через 48 годин супернатанти збирали й аналізували ELISA для визначення продукції IFN- γ .

25 6.2.8 Результати

Величини біологічної активності сполуки формули I підсумоні в таблицях з 1 по 5. В описаному вище аналізі стимульованих антитілом до CD3 людських Т клітин, сполука формули I підсилювала продукцію IL-2, IL-3, IL-5, IL-10, IL-15, GM-CSF, INF- γ , RANTES і TNF- α у концентраціях від 0,01 до 10 мкМ. Посилення продукції IL-2, IL-3, IL-13, GM-CSF, TNF- α і RANTES сполукою було залежним від концентрації. У концентрації 0,1 мкМ сполуки формули I продукція IL-2 і IL-13 підсилювалася до рівнів, відповідно в 14 і 7 разів перевищуючих рівні в контрольних клітинах. При концентрації 1 мкМ сполуки формули I продукція IL-2 і IL-13 підсилювалася до рівнів, відповідно в 17 і 8 разів перевищуючих рівні в контрольних клітинах. У низьких концентраціях ($\leq 0,01$ мкМ) сполука збільшувала продукцію IL-10 в 2 рази, але інгібувала продукцію IL-10 у концентрації 1 і 10 мкМ. Сполука збільшувала продукцію IL-5 в 3 і 4 рази відповідно при концентрації 0,01 і 0,1 мкМ, проявляючи менше посилення й при більш низьких, і при більш високих концентраціях.

Крім того, спостерігали, що в аналізі на людській пупковій артерії сполука формули I була активним антиангіогенним засобом з IC_{50} 9,4 нМ; і сполука формули I не інгібувала проліферацію HUVEC (людських пупкових ендотеліальних клітин).

При аналізі з використання Матригелю™ у мишей спостерігали, що сполука формули I значно інгібувала ріст кровоносних судин у дозі 30 мг/кг і проявляла дозозалежне інгібування ангіогенезу.

Спостерігали, що сполука формули I викликала зупинку на стадії розподілу G1 у лініях клітин DoHH2 і WSU-DLCL2. Спостерігали також, що в аналізах проліферації сполука формули I діяла синергічно з ритуксаном, за даними розрахунку з використанням методу Чоу-Талалая.

На моделі ксенотрансплантата DoHH2 спостерігали, що сполука формули I інгібувала ріст пухлини, і що комбінація сполуки формули I з ритуксаном викликала значну відстрочку часу до кінцевої точки у вигляді появи пухлини (63 %) при дозі 30 мг/кг. Інгібування росту пухлини спостерігали при дозі 3 і 30 мг/кг сполуки формули I у комбінації з ритуксаном (1 мг/кг) відповідно на 45 % і 55 % на 122-й день. Спостерігали також, що сполука формули I значно інгібувала кількість кровоносних судин, що утворюються в пухлині.

На моделі ксенотрансплантата WSU-DLCL2 комбінація сполуки формули I з ритуксаном (2 мг/кг внутрішньовенно один раз на тиждень) давала повну регресію на 60 % і 90 % (об'єм пухлини $< 25 \text{ мм}^3$) відповідно в дозі 3 і 30 мг.

На моделі ксенотрансплантата NCI-H929 MM, сполука формули I інгібувала ріст пухлини H929 дозозалежним чином. На 199-й день сполука виявила інгібування росту пухлини на 93 % у дозі 30 мг/кг, на 73 % інгібування росту пухлини в дозі 3 мг/кг і на 59 % інгібування росту пухлини в дозі 0,3 мг/кг.

На моделі ксенотрансплантата U87 GB спостерігали дозозалежне інгібування об'єму

пухлини. Сполука формули I значно інгібувала ріст пухлини U87 у дозі 3 і 30 мг/кг один раз на день.

Таблиця 1

Види активності in vitro

Аналіз	IC ₅₀ або EC ₅₀ (мкМ)
PBMC TNFα	0,063 ^a
WB TNFα	0,164 ^a
Індукований LPS TNFα	0,017 ^a
Т-клітинний IL-2	0,012-0,014 ^c
REC1 (MCL)	0,47 ^a
DoHH2 (FL)	0,61 ^b
Farage (GCB-DLBCL)	0,70 ^b
Ангіогенез людини	0,0094 ^a
IFNγ НК-клітин	0,0015 ^c
Проліферація В-клітин	0,015 ^c
IgG В-клітин	0,061 ^a
Колонії незрілих МК	>10 ^a
Колонії проміжних МК	>10 ^a

a=IC₅₀, b=GIC₅₀, c=EC₅₀

Таблиця 2

Види активності in vitro (5-денний аналіз включення ³H-тимідину)

		IC ₅₀ (мкМ)
Підтип ABC	OCI-Ly10	0,0085
	U2932	0,11-0,12
	TMD8	0,44
	RIVA	4,3
PMBL	Karpas-1106P	0,58-0,71
Підтип GCB	WSU-DLCL2	0,79-2,1
	SUDHL4	>10
	OCI-Ly19	>10

5

Таблиця 3

Активність сполуки формули I проти клітин, стійких до леналідоміду

	H929	D1	1051	1052	1053	1054
Леналідомід (n=3)	12,64	No IC ₅₀	No IC ₅₀	No IC ₅₀	No IC ₅₀	No IC ₅₀
Сполука формули I (n=3)	0,1539	0,3092	2,974	4,238	2,099	6,593

Таблиця 4

Вплив сполуки формули I на експресію білка HIF-1α у клітинах солідних пухлин

Лінії ракових клітин		% Інгібування при (1 мкМ)
Рак молочної залози	MCF-7	74,82 %
	HCT116	74,60 %
Колоректальний рак	HT29	78,54 %
	HCT15	69,26 %
Рак яєчників	Skov-3	100,00 %
	Ovcar-3	63,39 %

Продовження таблиці 4

Лінії ракових клітин		% Інгібування при (1 мкМ)
Рак передміхурової залози	DU145	66,01 %
Рак підшлункової залози	Miapasa-3	33,72 %
Рак нирок	786-O	41,70 %
Рак мозку	U87	73,81 %

Таблиця 5

Антипроліферативна активність сполуки формули I на лініях клітин DLBCL

Сполука формули I	Кореляція з антипроліферативною активністю (100 нМ)	Статистичні дані	
Бальні оцінки ABC Oncomine™	Корелюється	P<0,05	r ² =0,48
Бальні оцінки NFκB Oncomine™	Не корелюється	P>0,05	r ² =0,35
Вихідна активність субодиниці p50 NFκB	Корелюється	P<0,005	r ² =0,60
Вихідна активність субодиниці p65 NFκB	Корелюється	P<0,01	r ² =0,65
Вихідна експресія гена IRF4	Корелюється	P<0,05	r ² =0,47
Вихідна експресія гена SPIB	Не корелюється	P>0,05	r ² =0,027
Вихідна експресія гена цикліну D1	Не корелюється	P>0,05	r ² =0,21
Вихідна експресія гена A20	Не корелюється	P>0,05	r ² =0,044
Вихідна експресія гена CARD11	Корелюється	P<0,05	r ² =0,54
Вихідна експресія гена CRBN	Корелюється	P<0,05	r ² =0,45

6.3 Фармакокінетика

- 5 Спостерігали, що сполука формули I мала в плазмі людини $t_{1/2}$ 230 хв. Фармакокінетичні параметри при пероральному введенні мишам, щурам і мавпам підсумовані в таблицях з 5 по 7. Вплив ($AUC_{(0-t)}$) сполуки формули I збільшувався пропорційним дозі чином до 30 мг/кг у мишей SCID (з тяжким комбінованим імунodefіцитом), щурів CD-IDS і самців мавп. Сполука формули I у концентрації 10 мкМ не інгібувала які-небудь клітини-попередники.

10

Таблиця 6

Фармакокінетика при пероральному введенні

	Миші SCID	Щури SD	Зелені мавпи
Доза (мг/кг)	3 перорально	30 перорально	3 перорально
C_{max} (нг/мл (мкМ))	2900 (10)	4800 (17)	3300 (11)
AUC (нг-год./мл (мкМ-год.))	7100 (25)	25000 (87)	12000 (43)
$T_{1/2}$ (год.)		2,7	5,8
CL _p (мл/хв/кг)		11	1,2
F (%)		53	32

Таблиця 7

Фармакокінетичні профілі в самців мавп

Доза (мг/кг)	C _{max} (нг/мл)	AUC _{0-t} (нг*год./мл)
0,3	100 (0,36 мкМ)	1300 (4,5 мкМ-год.)
3	1100 (3,8 мкМ)	14000 (49 мкМ-год.)
10	3100 (11 мкМ)	38000 (130 мкМ-год.)
30	7700 (27 мкМ)	99000 (350 мкМ-год.)

Таблиця 8

Фармакокінетика в мавп в 1-ий день

Доза (мг/кг)	T _{max} (год.)	C _{max} (нг/мл)	AUC ₀₋₂₄ (нг*год./мл)
0,15	Від 2 до 4 (m ^a)	36(m)	430(m)
	2 (f ^b)	63(f)	450(f)
1,5	Від 2 до 4 (m)	510(m)	4600(m)
	2 (f)	680(f)	4100(f)
15	4 (m)	4100(m)	51000(m)
	Від 2 до 4 (f)	4200(f)	38000(f)

a. m: Самець; b. f: Самиця.

Таблиця 9

Фармакокінетика в мавп на 27-ий день

Доза (мг/кг)	T _{max} (год.)	C _{max} (нг/мл)	AUC ₀₋₂₄ (нг*год./мл)
0,15	4 (m ^a)	53(m)	570(m)
	Від 2 до 4 (f ^b)	57(f)	450(f)
1,5	2 (m)	560(m)	5700(m)
	Від 0,5 до 2 (f)	590(f)	4200(f)
15	Від 2 до 4 (m)	5800(m)	72000(m)
	4 (f)	7000(f)	75000(f)

a. m: Самець; b. f: Самиця.

- 5 Пероральне введення сполуки формули I у дозі 100, 300 і 10000 мг/кг/день протягом 7 послідовних днів у самців щурів CD-IGS у цілому привело до майже пропорційного дозі збільшенню впливу. Визначили, що NOAEL (рівнів не спостережуваних побічних ефектів) становив 1000 мг/кг/день.

6.4 Аналіз включення тимідину клітинами DLBCL in vitro

- 10 Панель ліній клітин DLBCL з різними цитогенетичними ознаками тестували для визначення їх чутливості до антипроліферативної активності сполуки формули I (фіг. 2). Клітини обробляли сполукою формули I протягом 5 днів при 37°C; проліферацію клітин визначали, використовуючи спосіб включення ³H-тимідину. Результати 3 незалежних експериментів показані (середня величина ± SD (стандартне відхилення)) на фіг. 2. Сполука, починаючи з 0,1 по 1 мкМ значно (p<0,05) інгібувала проліферацію декількох ліній клітин DLBCL, зокрема, клітин підтипу ABC, таких як клітини Riva, U2932, TMD8, OCI-Ly3 і OCI-Ly10. Клітини підтипу ABC виявляються більш чутливими до антипроліферативного ефекту, ніж клітини інших підтипів, включаючи клітини GCB-DLBCL і PMBL.

6.5 Інгібіторний ефект на активність NFκB у клітинах DLBCL

- 20 Клітини DLBCL обробляли сполукою формули I або подвійним інгібітором IKK 1/2 (застосовуваним як позитивний контроль на інгібітори) протягом 2 днів. Активність NFκB досліджували аналізом активного мотиву транскрипційного фактора, використовуючи ядерні екстракти із клітин після обробки. Результати показані на фіг. 1 (середня величина ± SD). Сполука формули I значно інгібує активність p65 і p50 NFκB у концентрації 0,1 мкМ, 1 мкМ і 10 мкМ. Було виявлено, що сполука формули I інгібує активність NFκB у деяких лініях клітин

DLBCL підтипу ABC, таких як клітини U2932 і OCI-Ly10. Ці результати свідчать про те, що вплив на передачу сигналів NFκB може бути залучений до антипроліферативної активності сполуки формули I проти клітин ABC-DLBCL, і що вихідна активність NFκB може являти собою прогностичний біомаркер ефективності протипухлинного лікування лімфоми сполукою.

5 6.6 Модель ксенотрансплантата в мишей *in vivo* для підтипу клітин OCI-Ly10

Ефективність сполуки формули I проти підтипу клітин OCI-Ly10 досліджують на моделі ксенотрансплантата в мишей *in vivo*. Самицям мишей CB.17 SCID у віці від 6 до 12 тижнів підшкірно в бік ін'єктують приблизно 0,2 мл/миша 1×10^7 пухлинних клітин OCI-Ly10 в 100 % матригелі. Лікування сполукою формули I починається як тільки пухлина досягає середнього розміру від 100 до 150 мг. Масу тіла вимірюють 5/2 і потім два рази на тиждень до кінця дослідження. Вимірювання пухлини циркулем виконують два рази на тиждень. Кінцевою точкою дослідження є затримка росту пухлини (TGD). Розраховують TGD у відсотках. Моніторинг тварин проводять індивідуально. Кінцевою точкою дослідження є об'єм пухлини 1000 мм³ або 60 днів, залежно від того, що настає першим. Тварини, у яких лікування ефективне, можуть спостерігатися довше.

Резекція пухлини: вирізати пухлини в середовищі, позбавленому РНКаз (розділити на 3 частини). Першу частину зберігають швидким заморожуванням у вигляді порошку для подальшого аналізу білка, умова транспортування -80°C. Другу частину зберігають пізніше в РНК, швидко заморожують, умова транспортування -80°C. Третю частину зберігають у формаліні протягом 24 годин, потім в 70 % етанолі, переносять при кімнатній температурі в РAI (інгібітор активатора плазміногену) для заливання в парафін. План обробки показаний нижче.

Група	N	Засіб	мг/кг	Шлях введення	Схема введення
1	10	Носій I	-	Перорально	Один раз на день × 28 днів
2	10	Сполука формули I	3	Перорально	Один раз на день × 28 днів
3	10	Сполука формули I	10	Перорально	Один раз на день × 28 днів
4	10	Сполука формули I	30	Перорально	Один раз на день × 28 днів
5	10	вінкристин	1	Перорально	Один раз на 4 дні × 28 днів

25 6.7 Моделі множинної мієломи

Здатність 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону інгібувати ріст ракових клітин оцінювали на ряді ліній клітин множинної мієломи (ММ), використовуючи способи *in vitro* і *in vivo* (фіг. 5A і 5B). Було показано, що 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон інгібує проліферацію клітин ММ у ряду клітинних ліній (фіг. 5A, 5B і 6). Наприклад, антипроліферативний ефект 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону був продемонстрований на моделі ксенотрансплантата N929 (фіг. 6).

30 6.8 Моделі впливу цереблону на клітини ABC-DLBCL, множинної мієломи й колоректального раку

Досліджували вплив білка цереблону (CRBN) на ефективність інгібування проліферації, ходу клітинного циклу і/або клітинну інвазію різних ліній ракових клітин сполукою формули I. Було виявлено, що сполука формули I взаємодіє з ендogenous CRBN дозозалежним чином. Сполука формули I також дозозалежним чином взаємодіє з CRBN HepG2 HCC. Крім того, було виявлено, що сполука формули I інгібує убіквітинацію CRBN при IC₅₀ 208,7 мкМ.

Модель клітин ABC-DLBCL

Було виявлено, що експресія цереблону модулює ефективність сполуки формули I проти проліферації ліній клітин ABC-DLBCL (фіг. 7A-7C). Цереблон був потрібний для інгібування кожного з показників експресії IRF4, активності NF-κB і клітинної проліферації.

Моделі клітин мієломи

Ефект цереблону оцінювали також на клітинах мієломи H929. Клітини H929 піддавали неправильній трансфекції, трансфекції siPHK (малої інтерферуючої РНК) як негативному контролю й CRBN-siRNA-7 протягом 24, 48, 72 і 96 годин. Клітини обробляли DMSO (0,1 %) через 24 години після трансфекції або сполукою формули I протягом 1, 2, 3 днів, і досліджували вплив на клітинний цикл і проліферацію. Сполука формули I викликала затримку ходу клітинного циклу, вимірювану як зменшення числа клітин у фазі S, у контролі неправильної трансфекції й у негативному контролі трансфекції клітин siPHK після 72 годин обробки (фіг. 8). Нокаут CRBN у значній мірі усував викликану лікарським засобом затримку ходу клітинного циклу в клітинах H929 з 65 до 22 % для сполуки формули I.

RT-PCR і вестерн-блотинг аналіз використовували для вимірювання рівнів ключових регуляторів клітинного циклу й апоптозу для додаткового дослідження впливів CRBN на зупинку клітинного циклу, викликану сполукою формули I. У клітинах H929 зупинка клітинного циклу у фазі G1 сполукою формули I збігається зі зниженням рівня пухлинного супресора, pRb, фосфорилювання й онкогену й IRF4, фактора виживання для клітин мієломи. Вестерн-блотинг аналіз показав, що сполука формули I зменшувала фосфорилювання pRb (фіг. 9A і 9B) і загальний рівень білка IRF4 (фіг. 9C і 9D). Цей ефект зменшувався нокдауном CRBN, свідчаючи про те, що інгібування ходу клітинного циклу лікарськими засобами вимагає наявності білка CRBN.

Було виявлено, що сполука формули I інгібує проліферацію чутливих до CRBN ліній клітин MM U266, 100-1 і 1K-2 (фіг. 10).

Модель колоректальних ракових клітин

Експресія цереблону також модулює антиінвазивну активність сполуки формули I у колоректальних ракових клітинах HCT-15 (фіг. 11). Здатність сполуки формули I інгібувати інвазію клітин HCT-15 знижувалася siCRBN (малим інтерферуючим CRBN).

6.9 Моделі солідних пухлин

Сполуку формули I оцінювали відносно її впливу на лінії клітин солідних пухлин різноманітної гістологічної природи (наприклад, молочної залози, яєчників, ободової і прямої кишки, НСС (спадкового колоректального раку)). Сполука формули I інгібує викликану гіпоксією експресію HIF1- α у багатьох лініях клітин солідних пухлин (фіг. 12A-12I). Крім того, сполука формули I у варійованих ступенях інгібує інвазію клітин солідних пухлин (таблиця 10) і утворення клітинних колоній (таблиця 11). Інгібування утворення колоній клітин солідних пухлин досліджували однократною обробкою сполукою формули I у високій концентрації (10 мкМ) в 1-ий день із наступним моніторингом утворення клітинної колонії протягом 10-20 днів (таблиця 11, фіг. 13A і 13B).

Сполука формули I інгібує ріст пухлинних клітин гліобластоми U87 у дозі 3 і 30 мг/кг один раз на день на моделі ксенотраплантата (фіг. 14).

Таблиця 10

Впливи сполуки формули I на інвазію клітин солідних пухлин

Тип пухлинних клітин	Лінія клітин (стимуляція)	Інвазія (IC ₅₀) Сполука формули I
гепатоцелюлярний рак	HepG2 (VEGF)	<0,001
	SK-HEP-1 (VEGF)	0,0061
гліобластома	SNB-19 (PDGF)	0,16
	SF-539 (PDGF)	0,025
	U251 (PDGF)	3,7
	SF-295 (PDGF)	0,24
	U87 (PDGF)	0,08
колоректальний рак	HCT15 (bFGF)	0,0072

Таблиця 11

Впливи сполуки формули I на утворення колоній клітин солідних пухлин

Тип пухлинних клітин	Лінія клітин	Інгібування утворення колоній в % ^a
гепатоцелюлярний рак	HCT15	3
	HCT116	13**
	Colo-205	17**
рак яєчників	OVCAR-3	18*
спадковий колоректальний рак	SK-HEP-1	6
	HEP-G2	6,9
гліобластома	SF268	0,6
	SF295	12,9
	U251	-6
	U87	2

рак молочної залози	MDA-MB-453	-7
	MCF-7	1,4
	ZR-75-1	90**
рак передміхурової залози	PC-3	14,8

^a: 10 мкМ сполуки формули I.

*: $p < 0,5$; **: $p < 0,001$ (у порівнянні з DMSO).

6.10 Визначення цитокинового профілю PBMC

Сполуку формули I вибрали для визначення профілю активності одинадцяти (11) цитокінів і хемокинів, тобто, інтерлейкіну (IL)-1 β , IL-6, IL-8, фактора, що стимулює колонії гранулоцитівомакрофагів (GM-CSF), хемокину макрофагального походження (MDC), макрофагального запального білка-1 альфа (MIP-1 α), макрофагального запального білка-1 бета (MIP-1 β), фактора некрозу пухлин-альфа (TNF- α), IL-10, моноцитарного хемотаксичного білка-1 (MCP-1) і RANTES (регульовані після активації нормальні експресовані й секретовані Т клітини), використовуючи стимульовані ліпополісахаридом людські мононуклеарні клітини периферичної крові (hPBMCs), отримані в 2-6 донорів.

Сполука формули I інгібувала продукцію (у порядку сили дії) TNF- α (IC_{50} =0,034 мкМ), > IL-1 β (IC_{50} =0,054 мкМ) > IL-6 (IC_{50} =0,060 мкМ) > MDC (IC_{50} =0,062 мкМ) > MIP-1 (IC_{50} =0,30 мкМ) > GM-CSF (IC_{50} =0,95 мкМ) > IL-8 (IC_{50} >10 мкМ) > MIP-1 β (IC_{50} >10 мкМ) (таблиця 12). Сполука формули I також підсилювала продукцію IL-10, MCP-1 і RANTES при середньому процентному збільшенні відносно контрольних величин відповідно 480 %, 236 % і 131 % при концентрації 0,1 мкМ.

Таблиця 12

Резюме профілю інгібування цитокінів сполуки формули I

	IL-6	IL-8	IL-1 β	GM-CSF	MDC	MIP-1 α	MIP-1 β	TNF- α
IC_{50}	0,060	>10	0,054	0,95	0,062	0,30	>10	0,034

6.11 Утворення, міграція й інвазія трубки HUVEC, викликані VEGF, bFGF і HGF

Сполука формули I продемонструвала високу інгібіторну активність в аналізі in vitro інвазії судинних ендотеліальних клітин пупкового канатика людини (HUVEC). Сполука формули I сильно інгібувала інвазію, викликану фактором росту судинного ендотелію (VEGF), основним фактором росту фібробластів (bFGF) і фактором росту гепатоцитів (HGF), слабо інгібувала викликане VEGF і bFGF утворення і міграцію трубки HUVEC і або підсилювала, або не інгібувала проліферацію HUVEC, викликану фактором росту. Величина IC_{50} для інгібування викликаної VEGF інвазії HUVEC склала 0,29 нМ. Величина IC_{50} для інгібування викликаної bFGF інвазії HUVEC склала 5,5 нМ. Величина IC_{50} для інгібування викликаної HGF інвазії HUVEC склала 110 нМ. Сполука формули I інгібувала викликану VEGF і bFGF міграцію відповідно на 38 % і 28 % при концентрації 1 мкМ.

6.12 Клінічний протокол

Нижче описана майбутня фаза 1a/1b клінічного дослідження для визначення безпеки, переносимості, фармакокінетики й ефективності сполуки формули I при пероральному введенні індивідам з поширеними солідними пухлинами, неходжкінською лімфомою або множинною мієломою. У дослідженні необхідно буде визначити непереносиму дозу (NTD), максимальну переносиму дозу (MTD) і рекомендовану дозу для 2-ої фази (RP2D). Буде оцінений ефект сполуки на біомаркери ангіогенезу в біоптатах пухлини до й після лікування.

Структура дослідження

Дослідження структурується як дослідження фази 1a/1b, яка складається із двох частин: збільшення дози (частина А) і застосування зазначеної дози в більшого числа включених у випробування індивідів (частина В). У частині А індивіди одержать одну й множину зростаючих доз сполуки формули I для визначення фармакокінетики (PK) і ідентифікації максимальної переносимої дози (MTD) і рекомендованої дози для 2-ої фази дослідження (RP2D). Стандартна схема збільшення дози (3+3) (Simon et al., 1997) буде використана для ідентифікації вихідної токсичності. Первинні когорти із трьох осіб будуть одержувати сполуку формули I (0,5 мг один раз на день) зі збільшеннями дози на 100 % до першого випадку токсичності 3 ступеня або вище, підозрюваного як викликаного застосуванням лікарського засобу в першому циклі, і в цій точці конкретна когорта буде розширена до загального числа шести індивідів. Ця стандартна схема збільшення дози буде почата для встановлення непереносимої дози (NTD) і MTD. Оцінка

безпеки може також проводитися з меншими збільшеннями дози й у додаткових індивідів усередині когорти, що одержує дану дозу. У частині А лікування й оцінка будуть проводитися приблизно в 20-40 індивідів; однак загальне число індивідів у частині А залежить від числа дозових когорт, необхідних для встановлення MTD. Доза буде вважатися NTD, якщо в 2 або більше із 6 оцінюваних осіб у когорті виявиться пов'язана з лікарським засобом обмежуюча дозу токсичність (DLT) протягом 1-го циклу. Після встановлення NTD, збільшення дози буде припинено. MTD визначається як останній рівень дози нижче NTD при 0 або 1 з 6 оцінюваних індивідів, у яких виявилася DLT під час 1-го циклу. Для більш точного визначення MTD і RP2D може знадобитися проміжна доза (тобто, доза між NTD і останнім рівнем дози перед NTD) або додаткові індивіди усередині когорти будь-якої дози.

У частині В індивіди можуть почати приймання на рівні MTD і/або більш низькому рівні дози на основі безпеки, даних PK і/або PD (фазової дози) частини А. Лікування й оцінка безпеки й протипухлинної активності буде проводитися приблизно в 100 індивідів (до 20 на когорті), стратифікованих по типу пухлини після кожних двох циклів лікування. Будуть також визначені відповідні доза, дози або схема. Під час Стадії В дані по безпеці будуть при доцільності регулярно аналізуватися відносно можливості продовження дослідження.

Популяція дослідження

У дослідження будуть включені чоловіки й жінки у віці 18 років або старше з поширеними солідними пухлинами (ST), неходжкінською лімфомою (NHL), множинною мієломою (MM) або з поширеними неоперабельними солідними пухлинами, включаючи індивідів, у яких відзначалося прогресування захворювання при стандартному лікуванні (або нездатність його переносити), або для яких не існує стандартне лікування. Вибрані типи пухлин включають метастатичний рак молочної залози (mBC), мультиформну гліобластому (GBM), гепатоцелюлярну карциному (HCC), дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому (DLBCL) і множинну мієлому (MM).

Уведення й тривалість дослідження

Протягом першого циклу, тільки в частині А, кожному індивіду буде вводиться однократна добова доза сполуки формули І в 1-ий день із наступним 48-годинним періодом спостереження й визначення PK показників, після чого буде йти перерва введення протягом 28 днів (1-ий цикл = 30 днів). У наступних циклах частини А індивідів лікують в 28-денних циклах при безперервному введенні з 1-го дня по 28-ий день. Сполука формули І буде вводиться один або два рази на день у дозі 0,1, 0,5, 1, 2, 4, 5, 7,5, 10, 20, 25 або 50 мг у первинній дозі. Доза може становити 0,1, 0,5, 1, 2, 4, 5, 7,5, 10 мг, що вводиться один раз на день. Доза може становити 50, 25 або 10 мг, що вводиться два рази на день. Під час лікування доза може підбиратися з її підвищенням або зниженням відносно початкової дози. Як описано вище, при необхідності лікарський засіб може вводиться циклічним чином.

У частині В індивідам безупинно вводять лікарський засіб протягом 28 днів від початку введення - 48-годинний період збору PK даних після введення первинної однієї дози відсутній.

Лікування буде припинено, якщо будуть свідчення прогресування захворювання, неприйнятної токсичності або рішення індивіда/лікаря його припинити. Індивіди можуть продовжувати приймання сполуки без переривання протягом настільки тривалого періоду, поки, на думку дослідника, вона виявляє в них сприятливу дію.

Очікується, що включення індивідів у дослідження відбудеться протягом приблизно 24 місяців. Очікується, що завершення активного лікування й спостереження індивідів займе ще 3-6 місяців.

Схеми лікування в рамках дослідження

Компанія Celgene Corporation забезпечить поставку сполуки формули І (HCl) у вигляді капсул по 0,1 мг, 0,5 мг, 1 мг і 3 мг для перорального введення. Сполука буде впакована у флакони усередину коробок, що містять лікарський засіб на 28 днів.

У частині А (фаза збільшення дози), рівень початкової дози буде становити 0,5 мг один раз на день після однократної PK дози. Після введення першої дози останньому індивіду в будь-якій когорті, індивідів спостерігають протягом щонайменше 30 днів перед тем як когорті може початися введення наступної, більш високої визначеної протоколом дози. Збільшення дози в одного індивіда не дозволяється доти, поки це не буде санкціоновано Комітетом з аналізу безпеки (SRC), який буде складатися з головного дослідника й медичного контролера від компанії Celgene.

У частині В індивіди можуть одержувати сполуку формули І в MTD і/або на більш низькому рівні дози на основі безпеки, оцінках PK і PD у частині А. Безпека й протипухлинні ефекти будуть оцінюватися приблизно в 100 осіб (попередньо вибраних типах пухлин у групах, що включають до 20 індивідів).

Огляд оцінок ефективності

Оцінка ефективності лікування буде оцінюватися після кожних 2 циклів. Первинним показником ефективності є реакція пухлини на лікування. Реакція пухлини на лікування буде основана на Критеріях оцінки ефективності лікування при солідних пухлинах (RECIST 1.1), Критеріях міжнародної робочої групи (IWC) для NHL, Міжнародних стандартних критеріях ефективності лікування для Множинної мієломи (IURC) (Додаток А, Розділ 18.1) або Оцінці ефективності лікування робочої групи по нейроонкології (RANO) для GBM.

Вторинні досліджувані кінцеві точки включають вимірювання біомаркерів у крові й пухлині, патогістологічні показники ефективності лікування й кореляції з фармакогеномними даними. Будуть також досліджені додаткові показники ефективності (наприклад, функціональний статус за критеріями ECOG (Східної Кооперативної Онкологічної групи), результати по даних PET); крім того, зміни гіповаскуляризації будуть вимірюватися константою передачі об'єму (Ktrans) і початковою AUC (IAUC) (площею під кривою при збільшенні дози) з використанням DCE-MRI (динамічної магнітно-резонансної візуалізації з контрастним посиленням).

Огляд оцінок безпеки

Показниками безпеки для даного дослідження є побічні явища, клінічні лабораторні показники, ЕКГ в 12 відведеннях (центрально аналізована), оцінки LVEF (фракції вигнання лівого шлуночка), фізикальні дослідження й показники життєво важливих функцій.

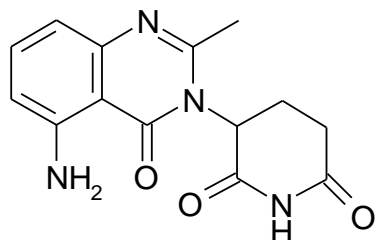
Огляд фармакокінетичних оцінок

РК профілі сполуки формули I і її метаболітів будуть визначатися в серійних зразках крові й сили під час першого циклу лікування. При можливості, вони будуть корелюватися з фармакодинамічними (PD) сходами.

Наведені вище приклади представлені для забезпечення фахівців у даній галузі повним описом того, як використовувати заявлені варіанти здійснення й не призначені для обмеження описаного в даній заявці об'єму винаходу. Передбачається, що модифікації, які очевидні для фахівців у даній галузі, входять у межі об'єму наступної формули винаходу. Усі публікації, патенти й патентні заявки, наведені в описі, включені в нього шляхом посилання як яби кожна публікація, патент або патентна заявка спеціально й індивідуально були зазначені як включені в даний опис шляхом посилання.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Застосування терапевтично ефективної кількості 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону, який має наступну структуру:



або його енантіомера, або суміші його енантіомерів, або його фармацевтично прийнятної солі, сольовату, гідрату, співкристала, клатрату або поліморфу для виготовлення лікарського засобу для лікування або ведення страждаючого на рак пацієнта, де лікарський засіб придатний для введення потребуючому такого лікування або ведення пацієнту.

2. Застосування за п. 1, де рак являє собою запущене злоякісне захворювання, амілоїдоз, нейробластоми, менінгіоми, гемангіоперицитому, множинні метастази в мозок, мультиформну гліобластоми, гліобластоми, гліому стовбура мозку, злоякісну пухлину мозку з несприятливим прогнозом, злоякісну гліому, анапластичну астроцитому, анапластичну олігодендрогліому, нейроендокринну пухлину, аденокарциному прямої кишки, колоректальний рак стадії C і D за Дьюксом, неоперабельну колоректальну карциному, метастатичну гепатоцелюлярну карциному, саркому Капоші, каротиповий гострий мієлобластний лейкоз, лімфому Ходжкіна, неходжкінську лімфому, шкірну Т-клітинну лімфому, шкірну В-клітинну лімфому, дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому, низькодиференційовану фолікулярну лімфому, злоякісну меланому, злоякісну мезотеліому, синдром злоякісної мезотеліоми із плевральним випотом, карциному очеревини, папілярну серозну карциному, гінекологічну саркому, саркому м'яких тканин, склеродермію, шкірний васкуліт, гістіоцитоз із клітин Лангерганса, лейоміосаркому, прогресуючу осифікуючу фібродисплазію, рак передміхурової залози, рефракторний до гормонів,

- резектовану саркому м'яких тканин з високим ризиком, неоперабельну печінковоклітинну карциному, макроглобулінемію Вальденстрема, млявоплинну мієлому, мієлому, яка повільно розвивається, рак фаллопієвих труб, андрогеннезалежний рак передміхурової залози, андрогензалежний неметастатичний рак передміхурової залози IV стадії, нечутливий до гормональної терапії рак передміхурової залози, нечутливий до хіміотерапії рак передміхурової залози, папілярну карциному щитовидної залози, фолікулярну карциному щитовидної залози, медулярну карциному щитовидної залози й лейоміому.
3. Застосування за п. 1, де рак являє собою гематологічну пухлину.
4. Застосування за п. 1, де рак являє собою мієлому або лімфому.
5. Застосування за п. 1, де рак являє собою солідну пухлину.
6. Застосування за п. 1, де рак являє собою рак молочної залози, колоректальний рак, рак яєчників, рак передміхурової залози, рак підшлункової залози або рак нирок.
7. Застосування за п. 1, де рак являє собою гепатоцелюлярну карциному, рак передміхурової залози, рак яєчників або гліобластому.
8. Застосування за п. 1, де рак являє собою неходжкінську лімфому.
9. Застосування за п. 8, де неходжкінська лімфома являє собою дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому.
10. Застосування за п. 9, де дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома належить до активованого В-клітинного фенотипу.
11. Застосування за п. 10, де дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома характеризується експресією одного або декількох біомаркерів, надекспресованих у клітинних лініях RIVA, U2932, TMD8 або OCI-Ly10.
12. Застосування за будь-яким з пп. 1-11, де рак є рецидивуючим або рефракторним.
13. Застосування за будь-яким з пп. 1-12, де рак є стійким до медикаментозної терапії.
14. Застосування терапевтично ефективною кількості 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діону або його фармацевтично прийнятної солі, сольвату або гідрату для одержання лікарського засобу для лікування або ведення пацієнта з неходжкінською лімфомою, де лікарський засіб придатний для введення пацієнту, і де пацієнт ідентифікований як страждаючий на неходжкінську лімфому, чутливу до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном.
15. Застосування за п. 14, де неходжкінська лімфома являє собою дифузну великоклітинну В-клітинну лімфому.
16. Застосування за п. 14, де неходжкінська лімфома належить до активованого В-клітинного фенотипу.
17. Застосування за п. 15, де дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома належить до активованого В-клітинного фенотипу.
18. Застосування за п. 17, де дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома характеризується експресією одного або декількох біомаркерів, надекспресованих у клітинних лініях RIVA, U2932, TMD8 або OCI-Ly10.
19. Застосування за п. 14, де ідентифікація пацієнта, що має неходжкінську лімфому, чутливу до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном або його сіллю, сольватом або гідратом, включає характеристику фенотипу неходжкінської лімфоми пацієнта як активованого В-клітинного підтипу.
20. Застосування за п. 19, де фенотип неходжкінської лімфоми характеризується як активований В-клітинний підтип дифузної великоклітинної В-клітинної лімфоми.
21. Застосування за п. 19, де фенотип неходжкінської лімфоми характеризується експресією одного або декількох біомаркерів, надекспресованих у клітинних лініях RIVA, U2932, TMD8 або OCI-Ly10.
22. Застосування за п. 14, де ідентифікація фенотипу неходжкінської лімфоми включає одержання біологічного зразка в пацієнта, що має лімфому.
23. Застосування за п. 22, де біологічний зразок являє собою біоптат лімфовузла, біоптат кісткового мозку або зразок пухлинних клітин периферичної крові.
24. Застосування за п. 14, де ідентифікація пацієнта, що має неходжкінську лімфому, чутливу до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном або його сіллю, сольватом або гідратом, включає ідентифікацію гена, пов'язаного з активованим В-клітинним фенотипом.
25. Застосування за п. 24, де ген, пов'язаний з активованим В-клітинним фенотипом, вибраний із групи, яка складається з IRF4/MUM1, FOXP1, SP1B, CARD11 і BLIMP/PDRM1.
26. Застосування за п. 14, де ідентифікація пацієнта, що має неходжкінську лімфому, чутливу до лікування 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діоном або його сіллю,

сольватом або гідратом, включає вимірювання рівня активності NF-κB у біологічному зразку, отриманому в пацієнта.

27. Застосування за п. 26, де біологічний зразок являє собою біоптат лімфовузла, біоптат кісткового мозку або зразок пухлинних клітин периферичної крові.

5 28. Застосування за п. 19, де характеристика фенотипу неходжкінської лімфоми пацієнта як активованого В-клітинного підтипу включає вимірювання одного або декількох з наступних показників:

(i) надекспресія SPIB, специфічного для гематопоезу сімейства факторів транскрипції Ets, необхідних для виживання клітин активованого В-клітинного підтипу;

10 (ii) вища конститутивна експресія IRF4/MUM1, ніж в клітинах підтипу GCB;

(iii) вища конститутивна експресія FOXP1, стимульована трисомією 3;

(iv) вища конститутивна експресія Blimp1, тобто PRDM1;

(v) вища конститутивна експресія гена CARD11; і

15 (vi) підвищений рівень активності NF-κB відносно клітин DLBCL неактивованого В-клітинного підтипу.

29. Застосування за будь-яким з пп. 1-28, де сполука являє собою гідрохлорид 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)-піперидин-2,6-діону або його сіль, сольват або гідрат.

30. Застосування за будь-яким з пп. 1-29, що додатково включає введення терапевтично ефективної кількості одного або декількох додаткових активних засобів.

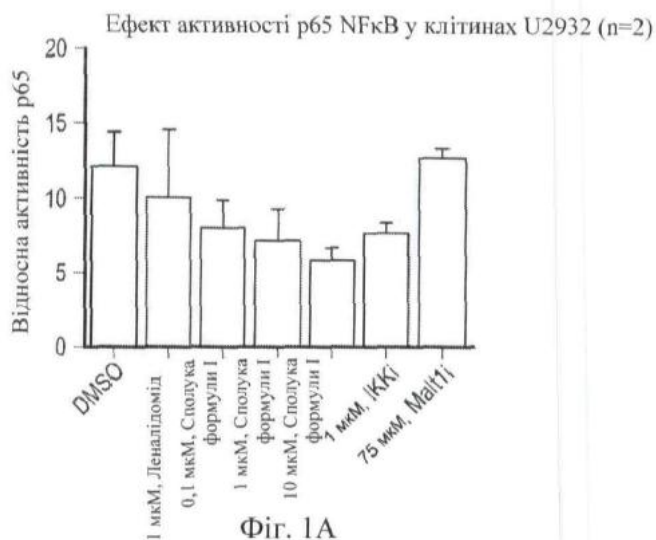
20 31. Застосування за п. 30, де додатковий активний засіб вибраний із групи, яка складається з алкілюючого агента, аналога аденозину, глюкокортикоїду, інгібітору кінази, інгібітору SYK, інгібітору PDE3, інгібітору PDE7, доксорубіцину, хлорамбуцилу, вінкристину, бендамустину, форсколіну й ритуксимабу.

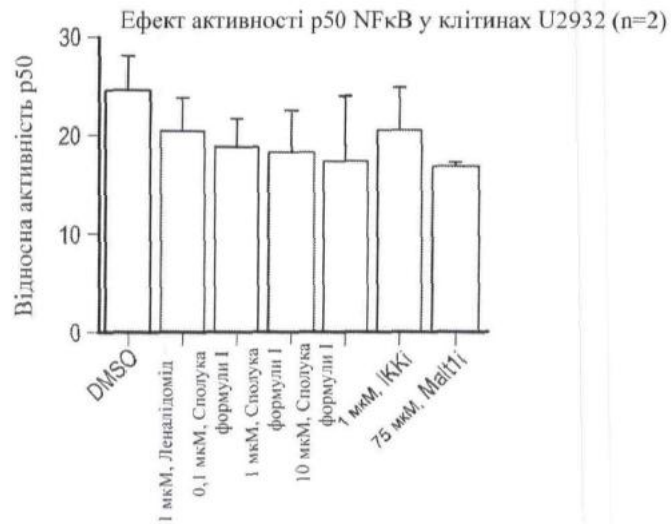
25 32. Застосування за будь-яким з пп. 1-31, де 3-(5-аміно-2-метил-4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)піперидин-2,6-діон або його фармацевтично прийнятна сіль, сольват або гідрат призначені для введення в кількості від приблизно 0,5 до приблизно 50 мг на день або від приблизно 0,5 до приблизно 5 мг на день, або приблизно 0,5, 1, 2, 4, 5, 10, 15, 20, 25 або 50 мг на день.

33. Застосування за п. 32, де сполука призначена для перорального введення в капсулі або таблетці.

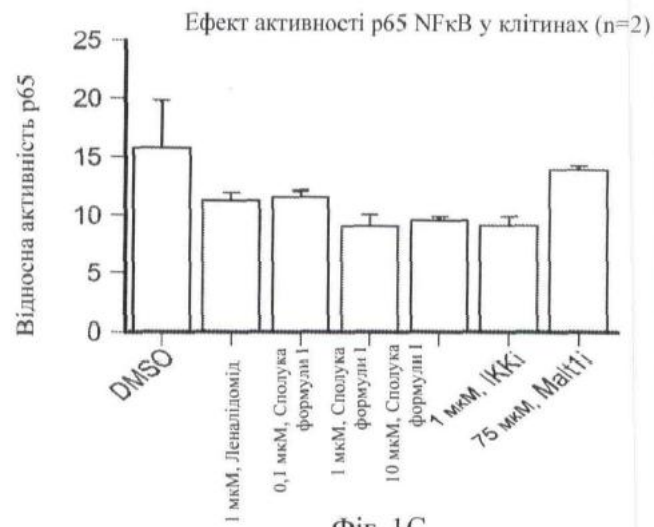
30 34. Застосування за будь-яким з пп. 1-33, де дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома є рецидивуючою, рефракторною або стійкою до звичайного лікування.

35. Застосування за будь-яким з пп. 1-34, де сполука вводиться протягом 21 дня з наступною семиденною перервою в 28-денному циклі.

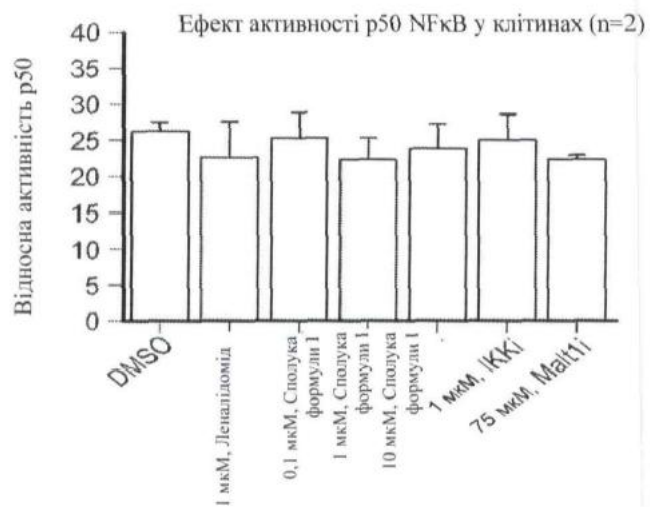




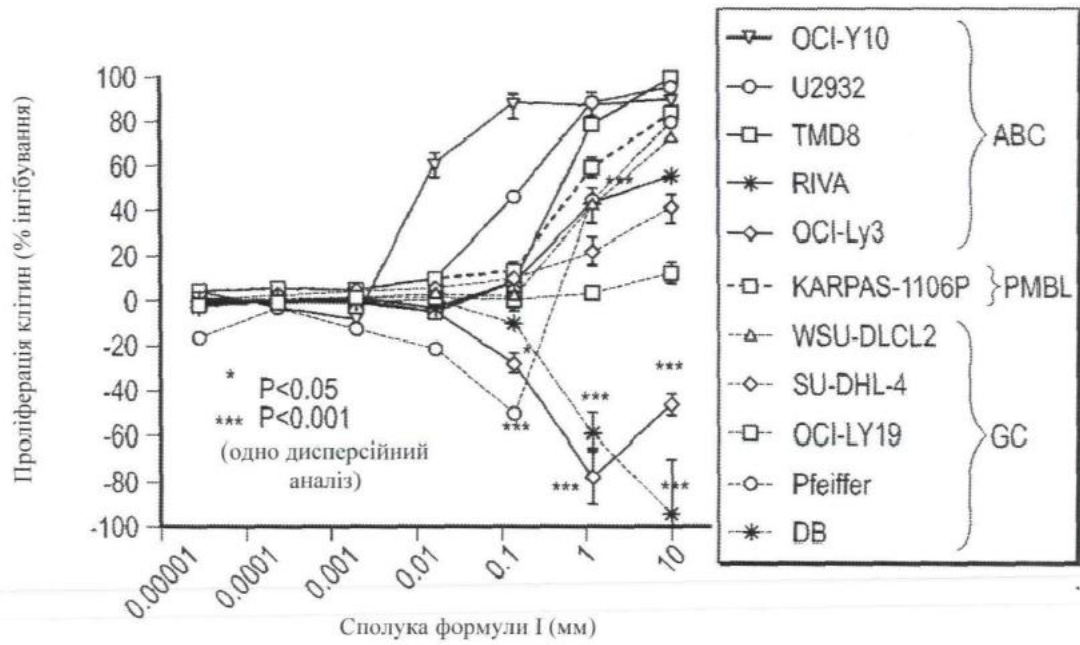
Фіг. 1В



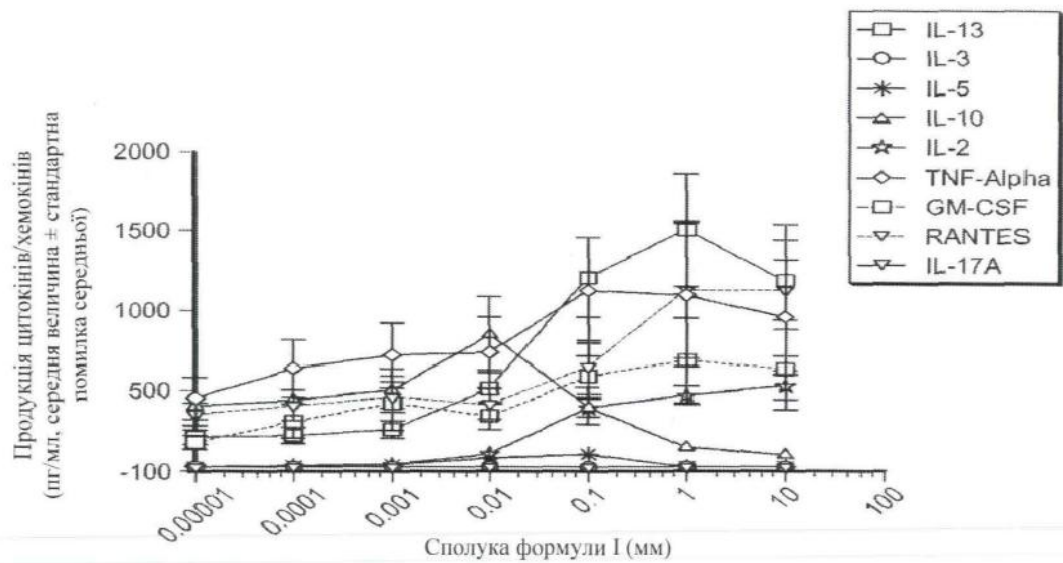
Фіг. 1С



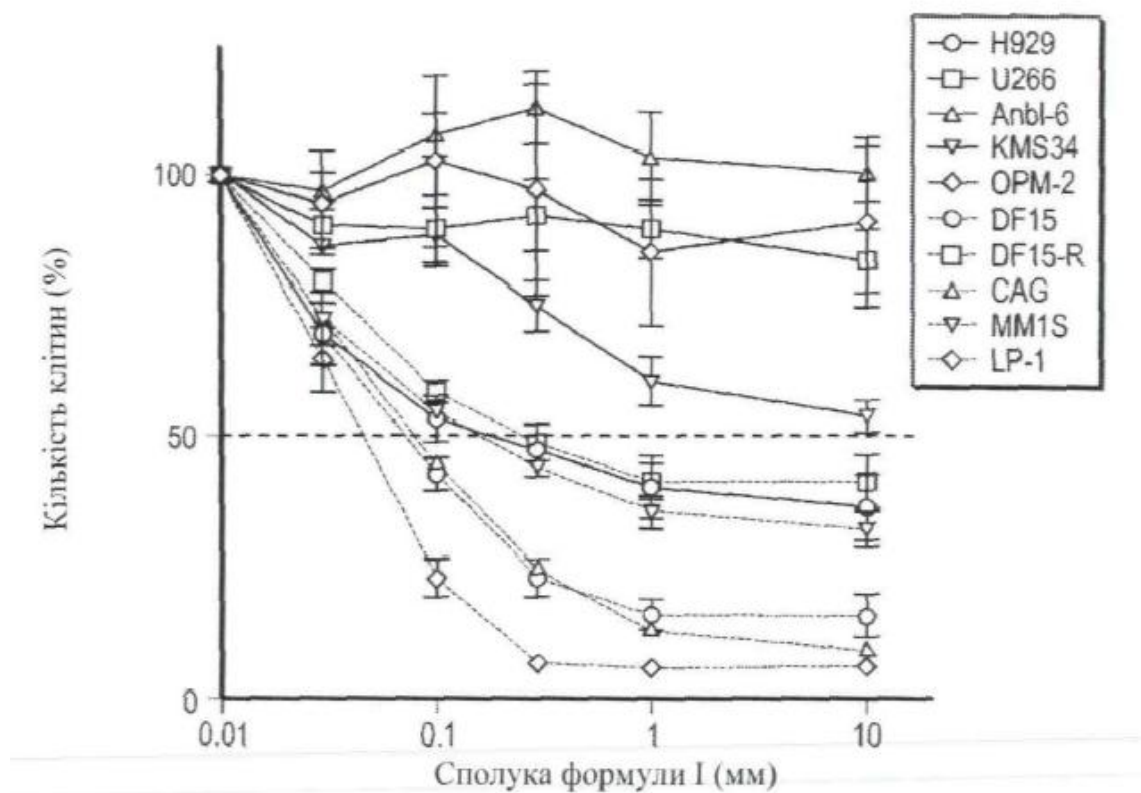
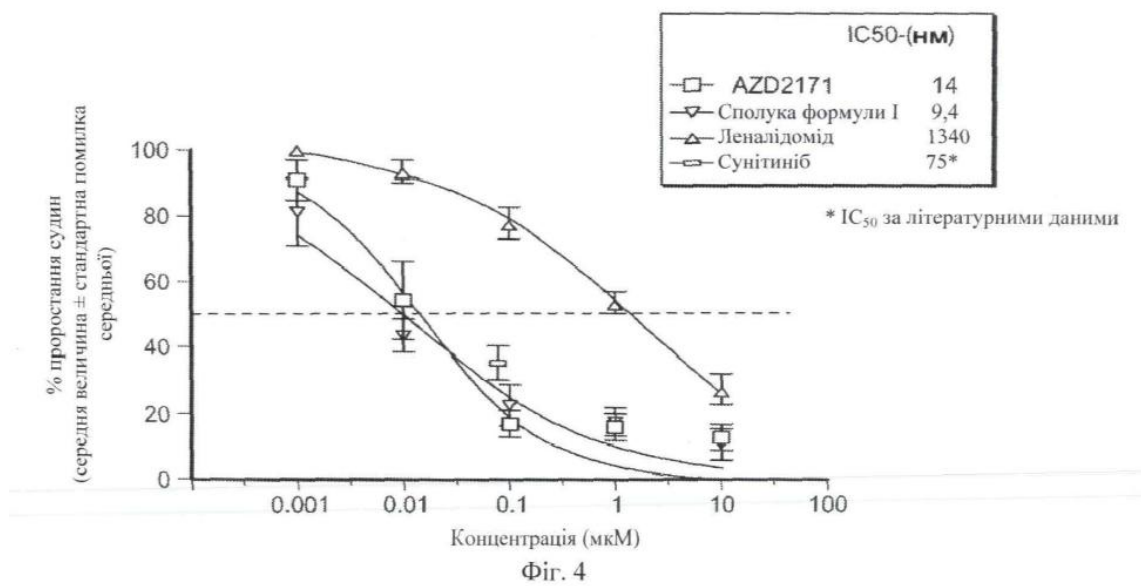
Фіг. 1D



Фіг. 2

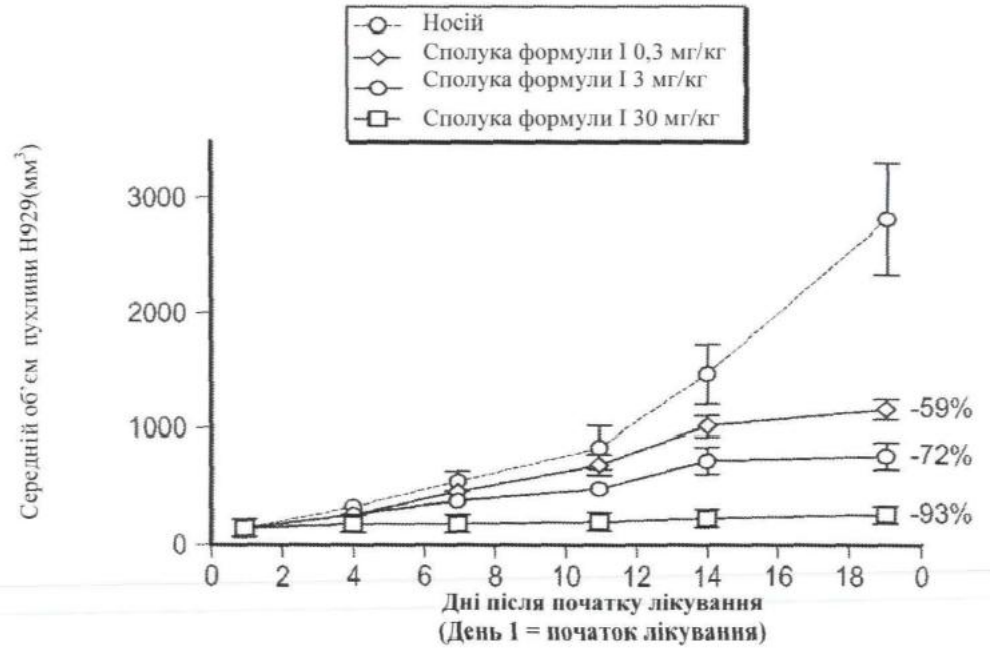


Фіг. 3

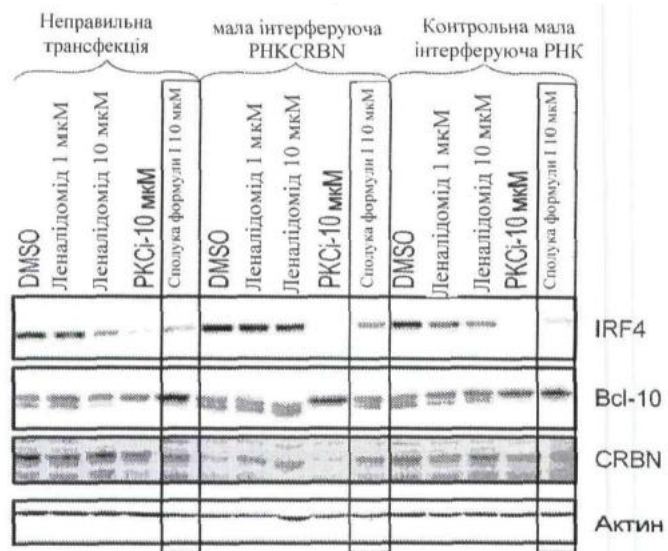


<div> <div> <div></div> Дуже чутливі </div> <div> <div></div> Чутливі </div> <div> <div></div> Проміжна чутливість </div> <div> <div></div> Відсутність чутливості </div> </div>		
Проліферація	CC-122	CC-5013
OPM2 (n=2)	0.04	0.3
H929 (n=3)	0.07	10.5
CAG (n=3)	0.085	12.2
MM1.S (n=3)	0.3	8.6
DF15 (n=3)	0.4	19.23
U266 (n=3)	0.4	12.6
KMS34 (n=3)	9.7	>10
LP-1 (n=3)	>10	>10
DF15R (n=3)	>10	>10
Anbl-6 (n=4)	>10	>10

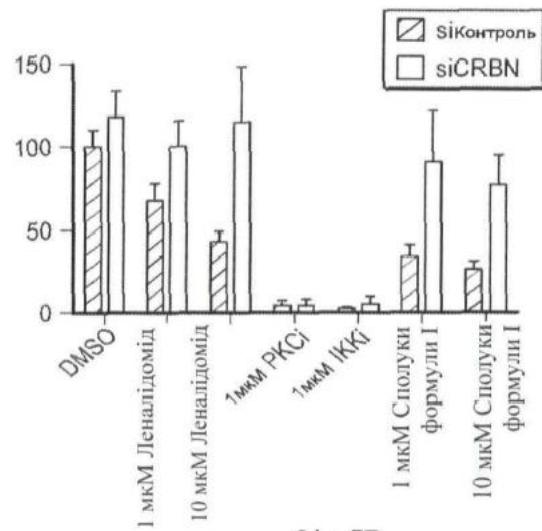
Фіг. 5В



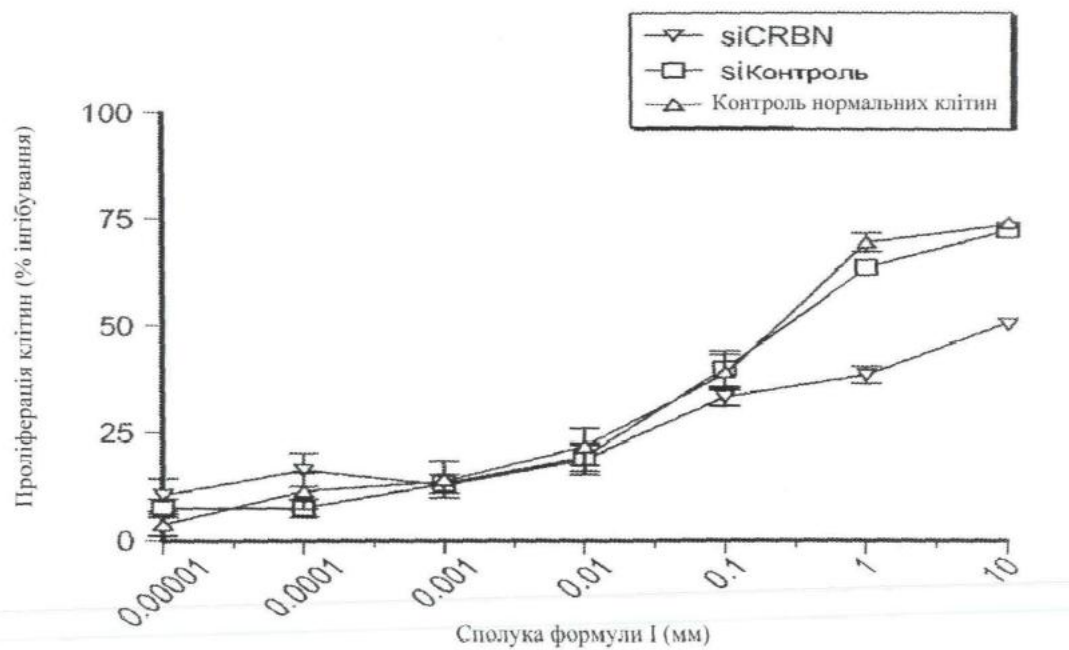
Фіг. 6



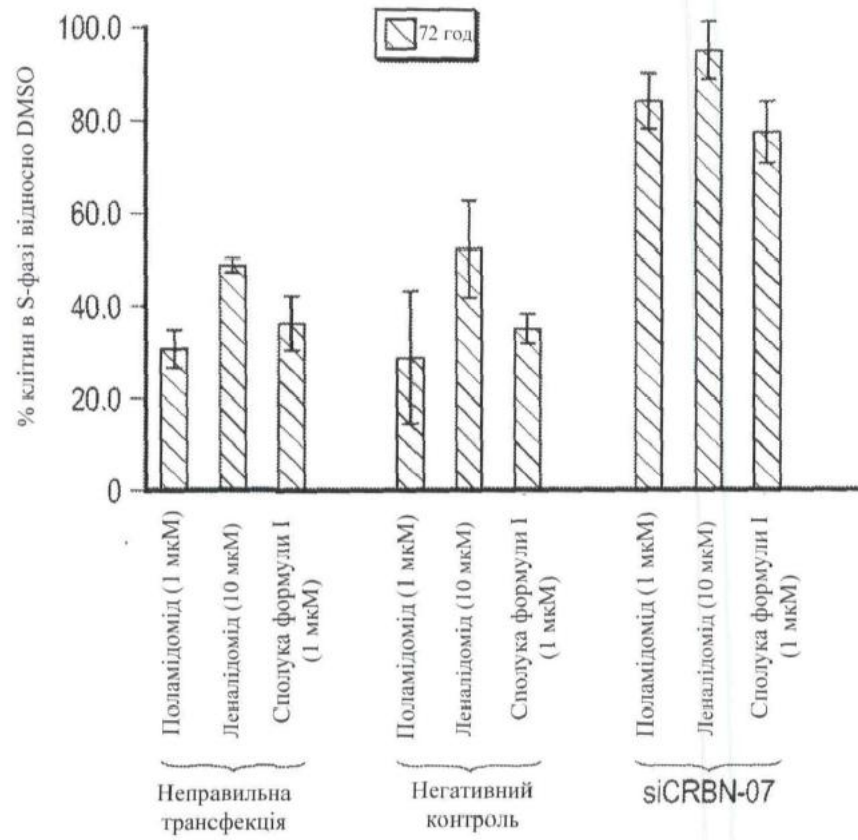
Фіг. 7А



Фіг. 7В



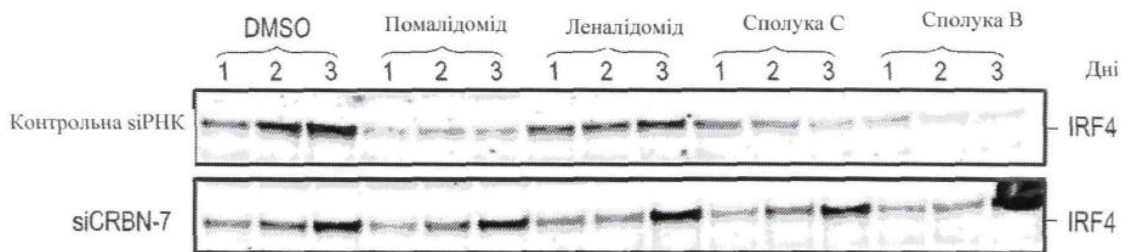
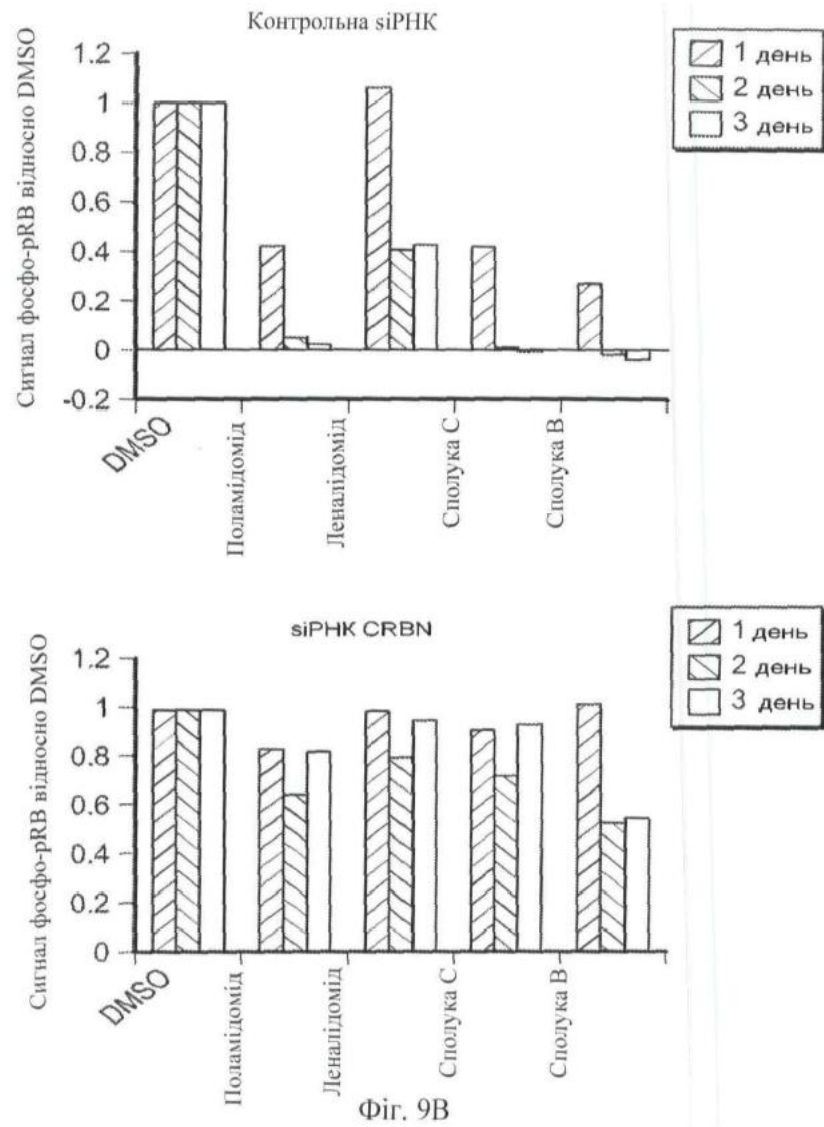
Фіг. 7С



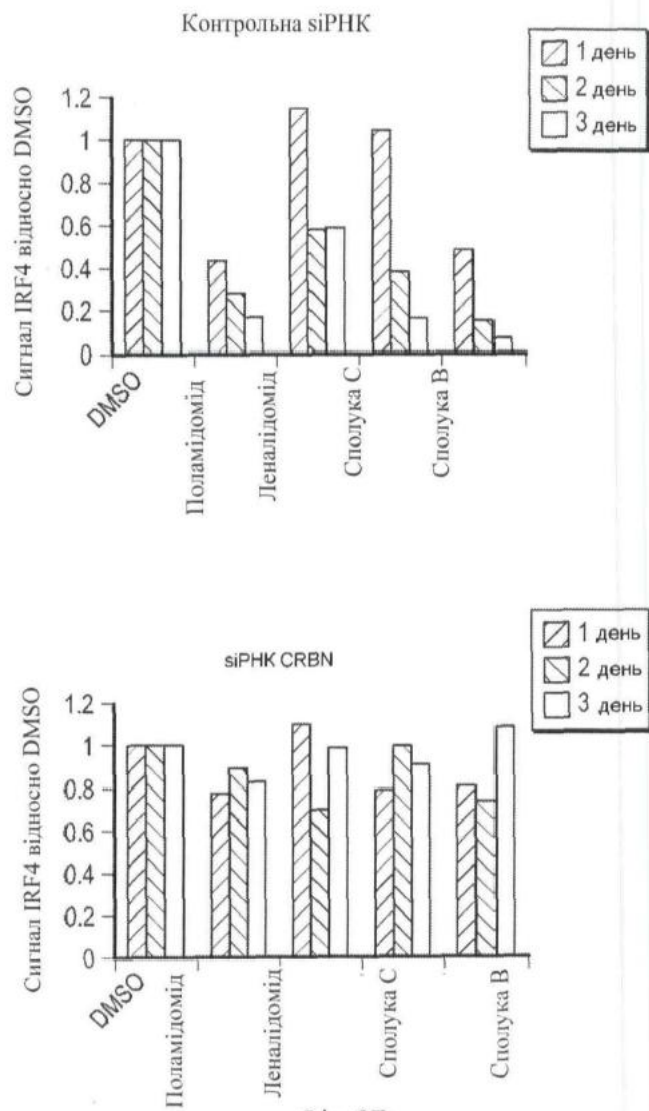
Фіг. 8



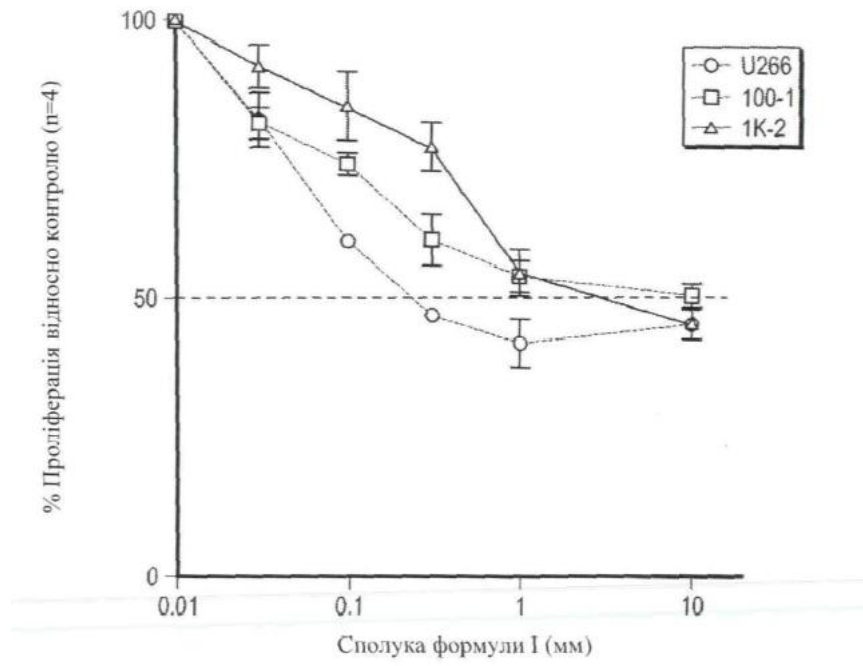
Фіг. 9А



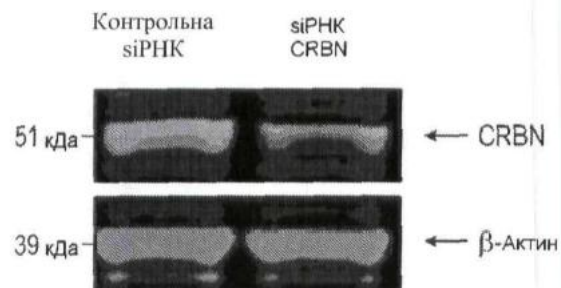
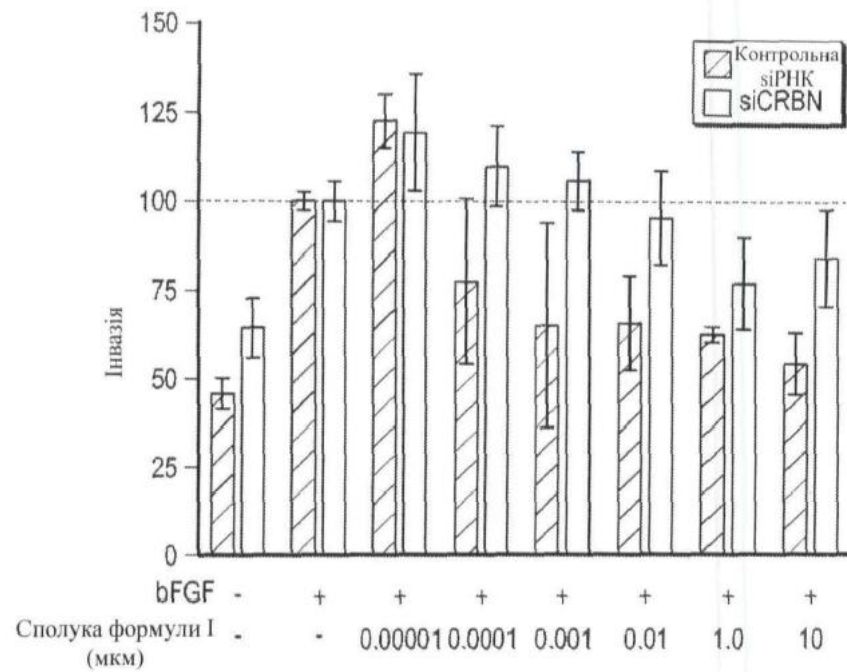
Фіг. 9С



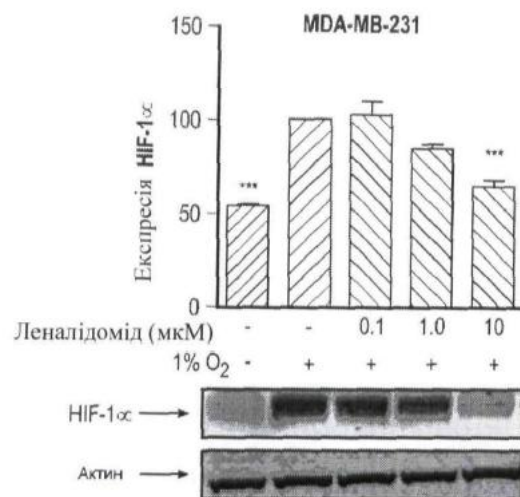
Фиг. 9D



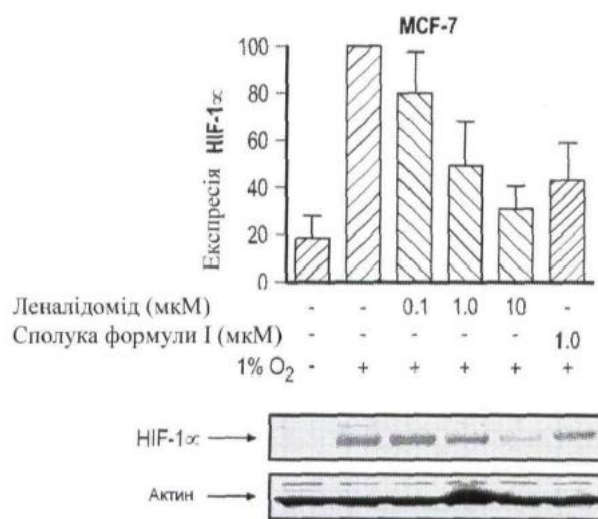
Фіг. 10



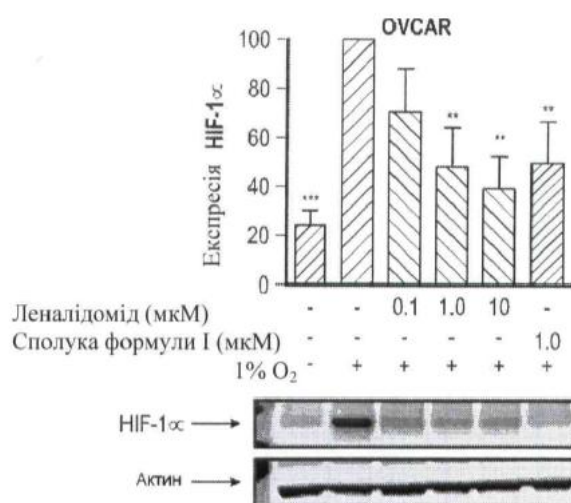
Фіг. 11



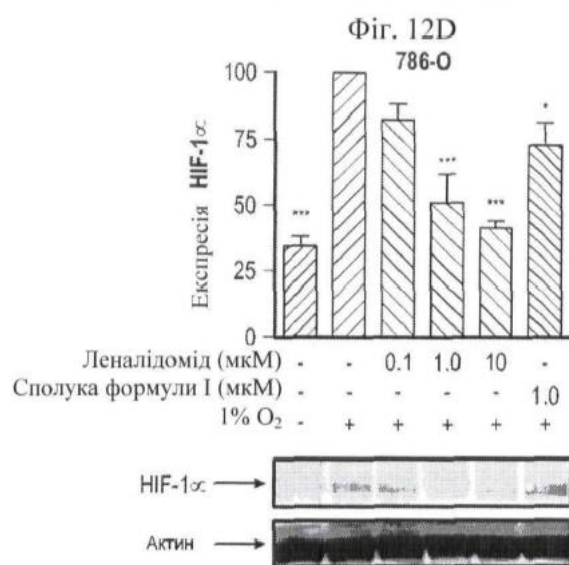
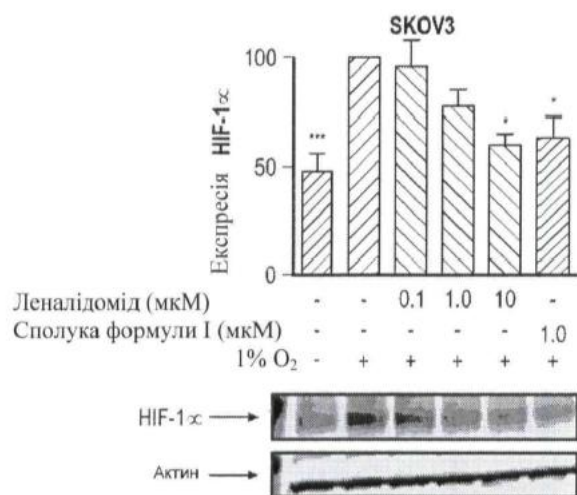
Фіг. 12A



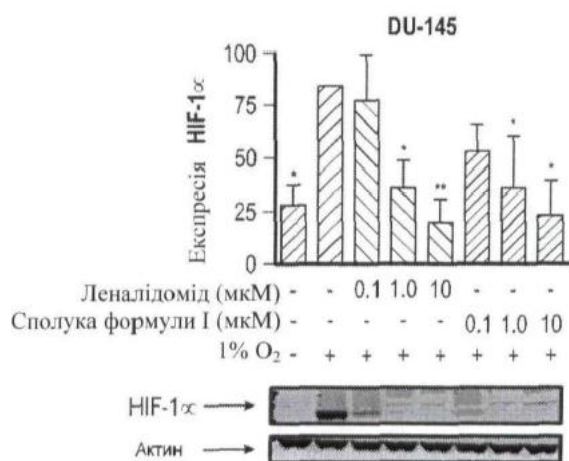
Фіг. 12B



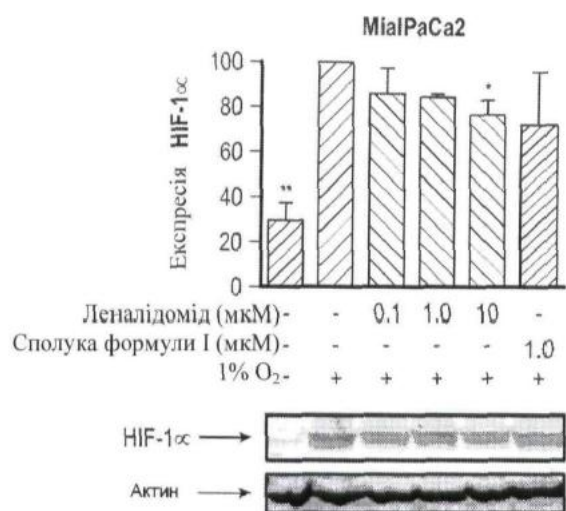
Фіг. 12C



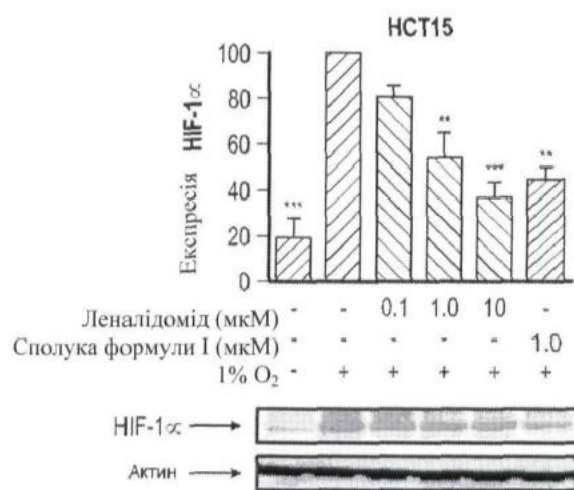
Фіг. 12E



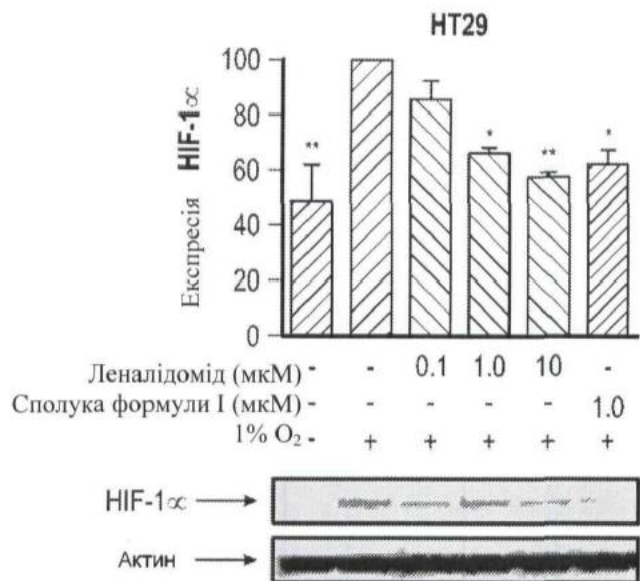
Фіг. 12F



Фіг. 12G

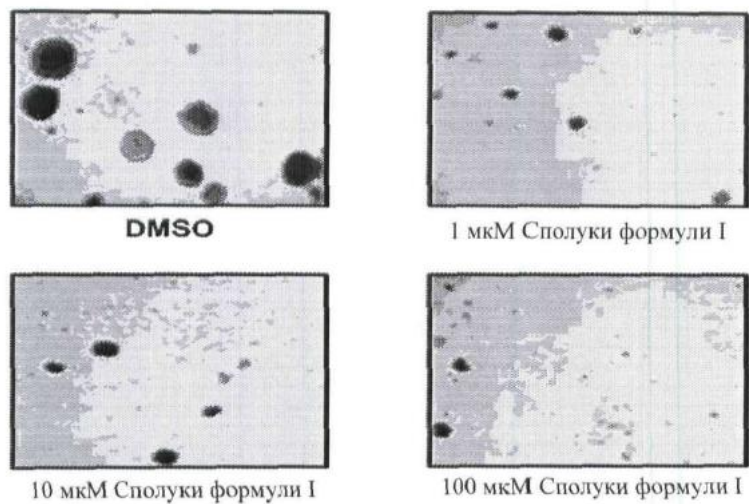


Фіг. 12H

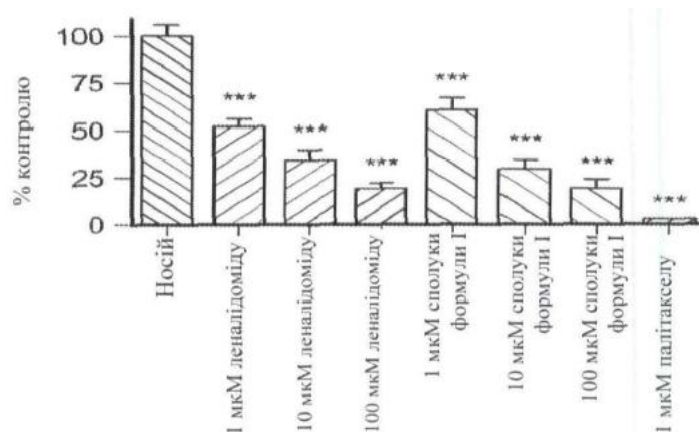


Фіг. 12I

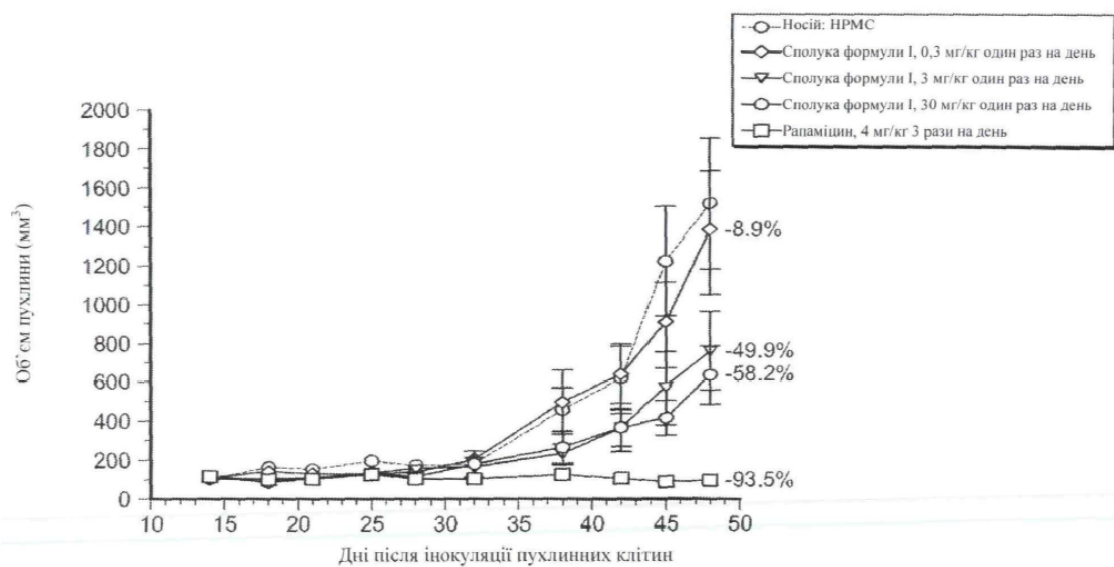
Клітини молочної залози ZR-75-1



Фіг. 13A



Фіг. 13В



Фіг. 14

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601