

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **043826**

(13) **B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2023.06.27**

**(21)** Номер заявки  
**202190595**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2019.09.13**

**(51)** Int. Cl. **A61K 31/437** (2006.01)  
**A61K 31/5025** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**C07D 471/04** (2006.01)  
**C07D 471/06** (2006.01)

---

**(54) КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

---

**(31)** 62/730,879; 62/737,628

**(32)** 2018.09.13; 2018.09.27

**(33)** US

**(43)** 2021.08.02

**(86)** PCT/IB2019/001009

**(87)** WO 2020/053655 2020.03.19

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ЗЕНИТ ЭПИДЖЕНЕТИКС ЛТД. (СА)**

**(72)** Изобретатель:  
**Кампо Эрик, Цудзикава Лаура (СА),  
Лахотиа Санджей (US)**

**(74)** Представитель:  
**Нилова М.И. (RU)**

**(56)** WO-A2-2015002754

SAHNI, J.M. et al., "Targeting bromodomain and extraterminal proteins in breast cancer". Pharmacological Research, 1 March 2018 (01-03-2018), Vol. 129, pp. 156-176, Entire document

LU YANG et al., "Repression of BET activity sensitizes homologous recombination-proficient cancers to PARP inhibition". Science Translational Medicine, 26 July 2017 (26-07-2017), Vol. 9(400), pp. eaall645, Retrieved from the Internet: <https://stm.sciencemag.org/content/9/400/eaall645/tab-pdf>, Entire document

WO-A1-2017015027

ROCHE, H. et al., "Aphase 3 study of the oral PARP inhibitor Talazoparib (BMN 673) in BRCA mutation subjects with advanced breast cancer (EMBRACA)". Annals of Oncology, 1 January 2015 (01-01-2015), Vol. 26 (Supplement 2), pp. ii16-ii19, Entire document

---

**(57)** В изобретении представлены способы лечения трижды негативного рака молочной железы (ТВ-NC), осуществляемые путем совместного введения ингибитора бромодомена BET-белков, выбранного из 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин (соединение I), 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин и их фармацевтически приемлемых солей/сокристаллов, и второго терапевтического средства нуждающегося в этом субъекту. Второе терапевтическое средство представляет собой ингибитор PARP, предпочтительно талазопариб, олапариб или велипариб.

---

**B1**

**043826**

**043826**

**B1**

Настоящее изобретение относится к лечению рака молочной железы.

#### **Уровень техники**

Трижды негативный рак молочной железы (TNBC), определяемый отсутствием экспрессии рецептора эстрогена ("ER") и рецептора прогестерона ("PR"), а также отсутствием сверхэкспрессии и амплификации рецептора 2 эпидермального фактора роста человека ("HER2"), составляет около 10-20% всех случаев рака молочной железы. Пациенты с TNBC имеют в целом худший прогноз по сравнению с другими типами рака молочной железы с повышенной вероятностью ранних рецидивов и смерти (Bauer et al., 2007). Метастатическое заболевание характеризуется высокой частотой метастазов в висцеральную и центральную нервную системы с медианой выживаемости, составляющей примерно 1 год (Kassam et al., 2009). Следовательно, крайне необходимы новые терапевтические стратегии.

Недавние достижения в исследовании биологии заболевания могут открыть возможности для классификации данного гетерогенного объекта на молекулярные подтипы с различными драйверами (Bageche et al., 2018). В частности, пациенты с раком молочной железы и терминальными мутациями BRCA1 и BRCA2 получают пользу от лечения с использованием класса действующих веществ направленного действия, называемых ингибиторы поли(ADP-рибозо)полимеразы (PARP), которые нацелены воздействуют на эксцизионную репарацию оснований (механизм репарации ДНК) и которые обуславливают искусственную летальность в опухолях с дефицитом механизма репарации ДНК, такого как гомологичная рекомбинация. Действительно, в двух испытаниях фазы 3, в которых участвовали пациенты с метастатическим раком молочной железы с терминальными мутациями BRCA1 или BRCA2, были получены положительные результаты при применении ингибиторов PARP олапариба (Robson et al., 2017) и талазопариба (Litton et al., 2017) по сравнению со стандартной химиотерапией. Согласно данным результатам Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США одобрило олапариб для лечения метастатического рака молочной железы с терминальными мутациями BRCA.

Несмотря на то что распространенность мутаций BRCA1 и BRCA2 выше при TNBC (вплоть до 24% в некоторых группах) (Copson et al., 2018), подавляющее большинство пациентов с TNBC не несет терминальных мутаций BRCA1 или BRCA2 и, следовательно, не может получить пользу от лечения ингибитором PARP (O'Shaughnessy et al., 2014).

В доклинических условиях комбинаторные стратегии обещают сенсibilизировать BRCA-профицитные опухоли к ингибиторам PARP, и новые данные были получены для некоторых ингибиторов бромодомена и экстратерминального домена (BET). Белки BET являются эпигенетическими считывающими устройствами и демонстрируют высокую селективность в отношении остатков ацетилированного лизина в гистонах и других белках. Они действуют как регуляторы транскрипции путем ассоциации со многими промоторами или энхансерами генов. Ранние клинические испытания ингибиторов BET (BETi) продемонстрировали ограниченную активность единственного средства у пациентов с гемобластомами (Berthon et al., 2016), NUT-карциномой (Stathis et al., 2016) и совсем недавно - с солидными опухолями (Aftimos et al., 2017). Тем не менее, есть перспективы для BETi в комбинациях с другими средствами, поскольку они модулируют механизмы устойчивости и придают чувствительность к различным средствам. Несколько исследовательских комбинированных клинических испытаний с использованием BETi продолжаются, включая комбинацию с моноклональными антителами иммунных контрольных точек, антагонистами рецепторов андрогенов, модуляторами эстрогена, ингибиторами BCL2 и другими.

Однако в настоящее время неясно, какие из ингибиторов BET будут синергетически сочетаться с ингибитором PARP; какой уровень синергии требуется; и какой ингибитор PARP будет наилучшим партнером по комбинации для каждого ингибитора BET для обеспечения клинического преимущества при введении пациентам с TNBC. В дополнение к клиническому результату комбинация также должна быть безопасной и хорошо переноситься при эффективных дозах. Из уровня техники невозможно предсказать, какие комбинации продемонстрируют лучший общий профиль.

#### **Краткое описание**

В настоящем изобретении раскрыты способы лечения трижды негативного рака молочной железы, осуществляемые путем совместного введения ингибитора бромодомена BET-белков формулы Ia или формулы Ib или его фармацевтически приемлемых соли или сокристалла и второго терапевтического средства нуждающемуся в этом субъекту.

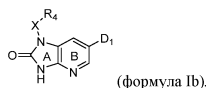
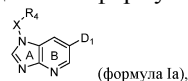
В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена BET-белков вводят одновременно со вторым терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена BET-белков вводят последовательно со вторым терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена BET-белков вводят в одной фармацевтической композиции со вторым терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена BET-белков и второе терапевтическое средство вводят как отдельные композиции. В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена BET-белков и второе терапевтическое средство вводят в комбинации с ингибитором иммунных контрольных точек.

В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой средство, применяемое для лечения рака молочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой TNBC.

В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство представляет собой ингибитор PARP.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена ВЕТ-белков и ингибитор PARP вводят в комбинации с ингибитором иммунных контрольных точек.

Ингибитор бромодомена ВЕТ-белков, применяемый в видах комбинированной терапии по настоящему изобретению, представляет собой соединение формулы Ia или формулы Ib,



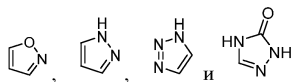
или его стереоизомер, таутомер, фармацевтически приемлемую соль или сокристалл, где:

кольцо A и кольцо B могут быть необязательно замещены группами, независимо выбранными из водорода, дейтерия, -NH<sub>2</sub>, amino, (C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub>)гетероцикла, (C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub>)карбоцикла, галогена, -CN, -OH, -CF<sub>3</sub>, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкила, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)гиоалкила, (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)алкенила и (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)алкокси;

X выбран из -NH-, -CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S-, -C(O)-, -C(O)CH<sub>2</sub>-, -C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>C(O)-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-, -C(O)NH-, -C(O)O-, -C(O)S-, -C(O)NHCH<sub>2</sub>-, -C(O)OCH<sub>2</sub>-, -C(O)SCH<sub>2</sub>-, где один или несколько атомов водорода могут быть независимо заменены на дейтерий, гидроксил, метил, галоген, -CF<sub>3</sub>, кетон, и где атом S может быть окислен до сульфоксида или сульфона;

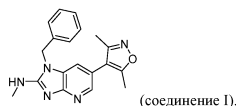
R<sub>4</sub> выбран из необязательно замещенных 3-7-членных карбоциклов или гетероциклов и

D<sub>1</sub> выбран из следующих 5-членных моноциклических гетероциклов:



которые необязательно замещены дейтерием, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкилом, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкокси, amino, галогеном, амидом, -CF<sub>3</sub>, -CN, -N<sub>3</sub>, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)кетон, -S(O)-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкилом, -SO<sub>2</sub>-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)алкилом, -(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)тиоалкилом, -COOH и/или сложным эфиром, каждый из которых может быть необязательно замещен водородом, F, Cl, Br, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NHMe, -OMe, -SMe, оксо и/или тио-оксо.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена ВЕТ-белков, предназначенный для применения в видах комбинированной терапии по настоящему изобретению, представляет собой соединение формулы Ia. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы Ia представляет собой 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин ("соединение I"), который имеет следующую формулу:



В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена ВЕТ-белков формулы Ia представляет собой фармацевтически приемлемую соль или сокристалл соединения I. В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена ВЕТ-белков представляет собой мезилатную соль/сокристалл соединения I в кристаллической форме I.

#### Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 показан эффект соединения I, талазопариба и комбинации соединения I и талазопариба на жизнеспособность клеток TNBC, клеточная линия HCC1937 (мутантный BRCA1).

На фиг. 2 показан эффект соединения I, олапариба и комбинации соединения I и олапариба на жизнеспособность клеток TNBC, клеточная линия HCC1937 (мутантный BRCA1).

На фиг. 3 показан эффект соединения I, велипариба и комбинации соединения I и велипариба на жизнеспособность клеток TNBC, клеточная линия HCC1937 (мутантный BRCA1).

На фиг. 4 показан эффект соединения I, олапариба и комбинации соединения I и олапариба на жизнеспособность клеток TNBC, клеточная линия HCC1599 (мутантный BRCA2).

На фиг. 5 показан эффект соединения I, талазопариба и комбинации соединения I и талазопариба на жизнеспособность клеток TNBC, клеточная линия BT549 (BRCA1 и BRCA2 дикого типа).

На фиг. 6 показан эффект соединения I, велипариба и комбинации соединения I и велипариба на жизнеспособность клеток TNBC, клеточная линия BT549 (BRCA1 и BRCA2 дикого типа).

На фиг. 7 показан эффект соединения I, олапариба и комбинации соединения I и олапариба на жизнеспособность клеток TNBC, клеточная линия BT549 (BRCA1 и BRCA2 дикого типа).

На фиг. 8 показан эффект соединения I, нирапариба и комбинации соединения I и нирапариба на жизнеспособность клеток HCC-70 (BRCA-1 и BRCA-2 дикого типа).

На фиг. 9 показана порошковая рентгеновская дифрактограмма (XRPD) мезилатной соли/сокристалла соединения I.

На фиг. 10 показана термограмма, полученная с помощью дифференциального сканирующего калориметра (DSC), для мезилатной соли/сокриссталла соединения I.

На фиг. 11 показан термогравиметрический анализ (TGA) мезилатной соли/сокриссталла соединения I.

На фиг. 12A показана индукция иммунного ответа в опухоли в ответ на комбинацию соединения I с энзалутамидом у пациентов с mCRPC. Оба образца до введения соединения I и после введения соединения I получены в условиях постоянного введения энзалутамида. На фиг. 12B показаны некоторые из ген-нов иммунного ответа, уровни экспрессии которых повышены в опухоли.

Определения.

Применяемые в данном документе "лечение" или "осуществление лечения" относятся к уменьшению интенсивности заболевания или нарушения или по меньшей мере одного их заметного симптома. В другом варианте осуществления "лечение" или "осуществление лечения" относятся к уменьшению интенсивности по меньшей мере одного измеряемого физического параметра, не обязательно заметного пациенту. В еще одном варианте осуществления "лечение" или "осуществление лечения" относятся к замедлению прогрессировать заболевания или нарушения, как физическому, например стабилизации заметного симптома, так и физиологическому, например стабилизации физического параметра, или к ним обоим. В еще одном варианте осуществления "лечение" или "осуществление лечения" относятся к отсрочке проявления заболевания или нарушения.

Под "необязательный" или "необязательно" подразумевается, что событие или условие, описанные далее, могут произойти или нет, и что описание включает случаи, при которых событие или условие происходят, и случаи, при которых они не происходят. Например, "необязательно замещенный арил" охватывает как "арил", так и "замещенный арил", определенные ниже. Специалистам в данной области техники будет понятно, что применительно к любой группе, содержащей один или несколько заместителей, не подразумевается, что в такие группы вводятся какие-либо замещения или паттерны замещений, которые являются пространственно неосуществимыми, невыполнимыми с точки зрения химического синтеза и/или нестабильными по своей природе.

Применяемый в данном документе термин "гидрат" относится к кристаллической форме с водой, включенной в кристаллическую структуру в стехиометрическом или нестехиометрическом количестве.

Применяемый в данном документе термин "алкенил" относится к ненасыщенному углеводороду с неразветвленной или разветвленной цепью, имеющему по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь, такому как группа из 2-8 атомов углерода с неразветвленной или разветвленной цепью, обозначаемая в данном документе как (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)алкенил. Иллюстративные алкенильные группы включают без ограничения винил, аллил, бутенил, пентенил, гексенил, бутадиенил, пентадиенил, гексадиенил, 2-этилгексенил, 2-пропил-2-бутенил и 4-(2-метил-3-бутен)пентенил.

Применяемый в данном документе термин "алкокси" относится к алкильной группе, присоединенной к атому кислорода (-O-алкил-). Группы "алкокси" также включают алкенильную группу, присоединенную к атому кислорода (группа "алкенилокси"), или алкинильную группу, присоединенную к атому кислорода (группа "алкинилокси"). Иллюстративные алкоксигруппы включают без ограничения группы с алкильной, алкенильной или алкинильной группой из 1-8 атомов углерода, обозначаемые в данном документе как (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкокси. Иллюстративные алкоксигруппы включают без ограничения метокси и этокси.

Применяемый в данном документе термин "алкил" относится к насыщенному углеводороду с неразветвленной или разветвленной цепью, такому как группа из 1-8 атомов углерода с неразветвленной или разветвленной цепью, обозначаемая в данном документе как (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)алкил. Иллюстративные алкильные группы включают без ограничения метил, этил, пропил, изопропил, 2-метил-1-пропил, 2-метил-2-пропил, 2-метил-1-бутил, 3-метил-1-бутил, 2-метил-3-бутил, 2,2-диметил-1-пропил, 2-метил-1-пентил, 3-метил-1-пентил, 4-метил-1-пентил, 2-метил-2-пентил, 3-метил-2-пентил, 4-метил-2-пентил, 2,2-диметил-1-бутил, 3,3-диметил-1-бутил, 2-этил-1-бутил, бутил, изобутил, трет-бутил, пентил, изопентил, неопентил, гексил, гептил и октил.

Применяемый в данном документе термин "амид" относится к -NRaC(O)(Rb) или -C(O)NRbRc, где каждый из Ra, Rb и Rc независимо выбран из алкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, циклоалкила, галогеналкила, гетероарила, гетероцикла и водорода. Амид может быть присоединен к другой группе через атом углерода, атом азота, Ra, Rb или Rc. Амид также может быть циклическим, например, Rb и Rc могут быть соединены с образованием 3-8-членного кольца, такого как 5- или 6-членное кольцо. Термин "амид" охватывает такие группы, как сульфонамид, мочевины, уреиды, карбаматы, карбаминовая кислота и их циклические варианты. Термин "амид" также охватывает амидную группу, присоединенную к карбоксильной группе, например, -амид-COOH или соли, такие как -амид-COONa, аминогруппу, присоединенную к карбоксильной группе (например, -амино-COOH или соли, такие как -амино-COONa).

Применяемый в данном документе термин "амин" или "амино" относится к структуре -NRdRe или -N(Rd)Re-, где Rd и Re независимо выбраны из алкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, карбамата, циклоалкила, галогеналкила, гетероарила, гетероцикла и водорода. Аминогруппа может быть присоединена к группе исходной молекулы через атом азота. Аминогруппа также может быть циклической,

например, любые два из Rd и Re могут быть соединены вместе или с N с образованием 3-12-членного кольца (например, морфолино или пиперидинила). Термин amino также включает соответствующую соль четвертичного аммония любой аминогруппы. Иллюстративные аминогруппы включают алкиламиногруппы, где по меньшей мере один из Rd или Re представляет собой алкильную группу. В некоторых вариантах осуществления каждый из Rd и Re может быть необязательно замещен гидроксильной группой, алкокси, сложным эфиром или амином.

Применяемый в данном документе термин "арил" относится к ароматической системе из одного, двух или нескольких карбоциклических колец. Арильная группа может быть необязательно конденсирована с одним или несколькими кольцами, выбранными из арилов, циклоалкилов и гетероциклов. Арильные группы по настоящему изобретению могут быть замещены группами, выбранными из алкокси, арилокси, алкила, алкенила, алкинила, амида, амино, арила, арилалкила, карбамата, карбокси, циано, циклоалкила, сложного эфира, простого эфира, формила, галогена, галогеналкила, гетероарила, гетероциклила, гидроксила, кетона, нитро, фосфата, сульфида, сульфинила, сульфонил-, сульфоновой кислоты, сульфонамида и тиокетона. Иллюстративные арильные группы включают без ограничения фенил, толил, антраценил, флуоренил, инденил, азуленил и нафтил, а также карбоциклические фрагменты с конденсированными бензолами, такие как 5,6,7,8-тетрагидронафтил. Иллюстративные арильные группы также включают без ограничения моноциклическую кольцевую ароматическую систему, в которой кольцо содержит 6 атомов углерода, обозначаемую в данном документе как "(C<sub>6</sub>)арил".

Применяемый в данном документе термин "арилалкил" относится к алкильной группе, имеющей по меньшей мере один арильный заместитель (например, -арил-алкил-). Иллюстративные арилалкильные группы включают без ограничения арилалкилы, имеющие моноциклическую кольцевую ароматическую систему, в которой кольцо содержит 6 атомов углерода, обозначаемую в данном документе как "(C<sub>6</sub>)арилалкил".

Применяемый в данном документе термин "карбамат" относится к структуре -RgOC(O)N(Rh)-, -RgOC(O)N(Rh)Ri- или -OC(O)NRhRi, в которой каждый из Rg, Rh и Ri независимо выбран из алкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, циклоалкила, галогеналкила, гетероарила, гетероциклила и водорода. Иллюстративные карбаматы включают без ограничения арилкарбаматы или гетероарилкарбаматы (например, в которых по меньшей мере один из Rg, Rh и Ri независимо выбран из арила или гетероарила, такого как пиридин, пиридазин, пиримидин и пиразин).

Применяемый в данном документе термин "карбоцикл" относится к арильной или циклоалкильной группе.

Применяемый в данном документе термин "карбокси" относится к -COOH или к соответствующим солям карбоновых кислот (например, -COONa). Термин "карбокси" также включает "карбоксикарбонил", например карбокси-группу, присоединенную к карбонильной группе, например -C(O)-COOH, или соли, такие как -C(O)-COONa.

Применяемый в данном документе термин "циклоалкокси" относится к циклоалкильной группе, присоединенной к атому кислорода.

Применяемый в данном документе термин "циклоалкил" относится к насыщенным или ненасыщенным циклическим, бициклическим углеводородным группам или бициклическим группам с мостиковой связью из 3-12 атомов углерода или 3-8 атомов углерода, обозначаемым в данном документе как "(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)циклоалкил", происходящим из циклоалкана. Иллюстративные циклоалкильные группы включают без ограничения циклогексаны, циклогексены, циклопентаны и циклопентены. Циклоалкильные группы могут быть замещены алкокси, арилокси, алкилом, алкенилом, алкинилом, амидом, амином, арилом, арилалкилом, карбаматом, карбокси, циано, циклоалкилом, сложным эфиром, простым эфиром, формилом, галогеном, галогеналкилом, гетероарилом, гетероциклилом, гидроксильной группой, кетоном, нитро, фосфатом, сульфидом, сульфинилом, сульфонил-, сульфоновой кислотой, сульфонамидом или тиокетоном. Циклоалкильные группы могут быть конденсированы с другими насыщенными или ненасыщенными циклоалкильными, арильными или гетероциклическими группами.

Применяемый в данном документе термин "дикарбоновая кислота" относится к группе, содержащей по меньшей мере две карбоксильные группы, как, например, дикарбоновым кислотам на основе насыщенных и ненасыщенных углеводородов и их солям. Иллюстративные дикарбоновые кислоты включают алкилдикарбоновые кислоты. Дикарбоновые кислоты могут быть замещены алкокси, арилокси, алкилом, алкенилом, алкинилом, амидом, амином, арилом, арилалкилом, карбаматом, карбокси, циано, циклоалкилом, сложным эфиром, простым эфиром, формилом, галогеном, галогеналкилом, гетероарилом, гетероциклилом, водородом, гидроксильной группой, кетоном, нитро, фосфатом, сульфидом, сульфинилом, сульфонил-, сульфоновой кислотой, сульфонамидом или тиокетоном. Дикарбоновые кислоты включают без ограничения янтарную кислоту, глутаровую кислоту, адипиновую кислоту, субериновую кислоту, себациновую кислоту, азелаиновую кислоту, малеиновую кислоту, фталевую кислоту, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, малоновую кислоту, фумаровую кислоту, (+)/(-)-яблочную кислоту, (+)/(-) винную кислоту, изофталевую кислоту и терефталевую кислоту. Дикарбоновые кислоты дополнительно включают производные соответствующих карбоновых кислот, такие как ангидриды, имиды, гидразиды (например, ангидрид янтарной кислоты и сукцинимид).

Термин "сложный эфир" относится к структуре  $-C(O)O-$ ,  $-C(O)O-R_j-$ ,  $-R_kC(O)O-R_j-$  или  $-R_kC(O)O-$ , где атом O не соединен с водородом, а  $R_j$  и  $R_k$  независимо могут быть выбраны из алкокси, арилокси, алкила, алкенила, алкинила, амида, амина, арила, арилалкила, циклоалкила, простого эфира, галогеналкила, гетероарила и гетероциклила.  $R_k$  может представлять собой водород, но  $R_j$  не может представлять собой водород. Сложный эфир может быть циклическим, например, атом углерода и  $R_j$ , атом кислорода и  $R_k$  или  $R_j$  и  $R_k$  могут быть соединены с образованием 3-12-членного кольца. Иллюстративные сложные эфиры включают без ограничения алкиловые сложные эфиры, где по меньшей мере один из  $R_j$  или  $R_k$  представляет собой алкил, такие как  $-O-C(O)$ -алкил,  $-C(O)-O$ -алкил- и  $-алкил-C(O)-O$ -алкил-. Иллюстративные сложные эфиры также включают ариловые или гетероарильные сложные эфиры, например, где по меньшей мере один из  $R_j$  или  $R_k$  представляет собой гетероарильную группу, такую как пиридин, пиридазин, пиримидин и пиразин, как, например, никотинатный сложный эфир. Иллюстративные сложные эфиры также включают обратные сложные эфиры, имеющие структуру  $-R_kC(O)O-$ , где атом кислорода связан с исходной молекулой.

Иллюстративные обратные сложные эфиры включают сукцинат, D-аргининат, L-аргининат, L-лизинат и D-лизинат. Сложные эфиры также включают ангидриды карбоновых кислот и галоидангидриды кислот.

Применяемые в данном документе термины "галогено" или "галоген" относятся к F, Cl, Br или I.

Применяемый в данном документе термин "галогеналкил" относится к алкильной группе, замещенной одним или несколькими атомами галогена. "Галогеналкилы" также охватывают алкенильные или алкинильные группы, замещенные одним или несколькими атомами галогена.

Применяемый в данном документе термин "гетероарил" относится к ароматической системе из одного, двух или нескольких колец, содержащих один или несколько гетероатомов, например 1-3 гетероатома, таких как атом азота, кислорода и серы. Гетероарилы могут быть замещены одним или несколькими заместителями, в том числе алкокси, арилокси, алкилом, алкенилом, алкинилом, амидом, амина, арилом, арилалкилом, карбаматом, карбокси, циано, пиклоалкилом, сложным эфиром, простым эфиром, формилом, галогеном, галогеналкилом, гетероарилом, гетероциклилом, гидроксилом, кетоном, нитро, фосфатом, сульфидом, сульфенилом, сульфонилом, сульфоновой кислотой, сульфонамидом или тиокетоном. Гетероарилы также могут быть конденсированы с неароматическими кольцами. Иллюстративные примеры гетероарильных групп включают без ограничения пиридинил, пиридазинил, пиримидил, пиразил, триазинил, пирролил, пиразолил, имидазолил, (1,2,3)- и (1,2,4)-триазолил, пиразинил, пирамидил, тетразолил, фурил, тиенил, изоксазолил, тиазолил, фурил, фенил, изоксазолил и оксазолил. Иллюстративные гетероарильные группы включают без ограничения моноциклическое ароматическое кольцо, где кольцо содержит 2-5 атомов углерода и 1-3 гетероатома, обозначаемое в данном документе как "(C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>)гетероарил".

Применяемые в данном документе термины "гетеропикл", "гетероциклил" или "гетероциклический" относятся к насыщенным или ненасыщенным 3-, 4-, 5-, 6- или 7-членным кольцам, содержащим один, два или три гетероатома, независимо выбранные из атома азота, кислорода и серы. Гетероциклы могут быть ароматическими (гетероарилы) или неароматическими. Гетероциклы могут быть замещены одним или несколькими заместителями, в том числе алкокси, арилокси, алкилом, алкенилом, алкинилом, амидом, амина, арилом, арилалкилом, карбаматом, карбокси, циано, никлоалкилом, сложным эфиром, простым эфиром, формилом, галогеном, галогеналкилом, гетероарилом, гетероциклилом, гидроксилом, кетоном, нитро, фосфатом, сульфидом, сульфенилом, сульфонилом, сульфоновой кислотой, сульфонамидом или тиокетоном. Гетероциклы также включают бициклические, трициклические и тетрациклические группы, в которых любое из вышеупомянутых гетероциклических колец конденсировано с одним или двумя кольцами, независимо выбранными из арилов, циклоалкилов и гетероциклов. Иллюстративные гетероциклы включают акридинил, бензимидазолил, бензофурил, бензотиазолил, бензотиенил, бензоксазолил, биотинил, циннолинил, дигидрофурил, дигидроиндолил, дигидропиранил, дигидротиенил, дитиазолил, фурил, гомопиперидинил, имидазолидинил, имидазолинил, имидазолил, индолил, изохинолил, изотиазолидинил, изотиазолил, изоксазолидинил, изоксазолил, морфолинил, оксадиазолил, оксазолидинил, оксазолил, пиперазинил, пиперидинил, пиранилил, пиразолидинил, пиразинил, пиразолил, пиразолинил, пиридазинил, пиридил, пиримидинил, пиримидил, пирролидинил, пирролидин-2-онил, пирролинил, пирролил, хинолинил, хиноксалоил, тетрагидрофурил, тетрагидроизохинолил, тетрагидропиранил, тетрагидрохинолил, тетразолил, тиadiaзолил, тиазолидинил, тиазолил, тиенил, тиоморфолинил, тиопиранилил и триазолил.

Применяемые в данном документе термины "гидрокси" и "гидроксил" относятся к -ОН.

Применяемый в данном документе термин "гидроксиалкил" относится к гидроксильной группе, присоединенной к алкильной группе.

Применяемый в данном документе термин "гидроксиарил" относится к гидроксильной группе, присоединенной к арильной группе.

Применяемый в данном документе термин "кетон" относится к структуре  $-C(O)-R_n$  (такой как ацетил,  $-C(O)CH_3$ ) или  $-R_n-C(O)-R_o-$ . Кетон может быть присоединен к другой группе через  $R_n$  или  $R_o$ .  $R_n$  или  $R_o$  могут представлять собой алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклил или арил, или  $R_n$

или Ro могут быть соединены с образованием 3-12-членного кольца.

Применяемый в данном документе термин "фенил" относится к 6-членному карбоциклическому ароматическому кольцу. Фенильная группа также может быть конденсирована с циклогексановым или циклопентановым кольцом. Фенил может быть замещен одним или несколькими заместителями, в том числе алкокси, арилокси, алкилом, алкенилом, алкинилом, амидом, амино, арилом, арилалкилом, карбаматом, карбокси, циано, циклоалкилом, сложным эфиром, простым эфиром, формилом, галогеном, галогеналкилом, гетероарилом, гетероциклилом, гидроксилом, кетоном, фосфатом, сульфидом, сульфинилом, сульфонилом, сульфоновой кислотой, сульфонамидом и тиокетоном.

Применяемый в данном документе термин "тиоалкил" относится к алкильной группе, присоединенной к атому серы (-S-алкил-).

"Алкильные", "алкенильные", "алкинильные", "алкокси", "амино" и "амидные" группы могут быть необязательно замещены по меньшей мере одной группой, выбранной из алкокси, арилокси, алкила, алкенила, алкинила, амида, амино, арила, арилалкила, карбамата, карбонила, карбокси, пиано, циклоалкила, сложного эфира, простого эфира, формула, галогена, галогеналкила, гетероарила, гетероциклила, гидроксила, кетона, фосфата, сульфида, сульфонила, сульфонила, сульфоновой кислоты, сульфонамида, тиокетона, уреида и N, или прерываться ею или разветвляться с помощью нее. Заместители могут быть разветвленными с образованием замещенных или незамещенных гетероцикла или циклоалкила.

Как применяется в данном документе, подходящее замещение на необязательно замещенном заместителе относится к группе, которая не приводит к исчезновению синтетической или фармацевтической применимости соединений по настоящему изобретению или промежуточных соединений, применимых при их получении. Примеры подходящих замещений включают без ограничения: C<sub>1-8</sub>алкил, алкенил или алкинил; C<sub>1-6</sub>арил, C<sub>2-5</sub>гетероарил; C<sub>3-7</sub>циклоалкил; C<sub>1-8</sub>алкокси; C<sub>6</sub>арилокси; -CN; -OH; оксо; галоген, карбокси; амино, такую как -NH(C<sub>1-8</sub> алкил), -N(C<sub>1-8</sub>алкил)<sub>2</sub>, -NH((C<sub>6</sub>)арил) или -N((C<sub>6</sub>)арил)<sub>2</sub>; формил; кетоны, такие как -CO(C<sub>1-8</sub>алкил), -CO((C<sub>6</sub>арил)-сложные эфиры, такие как -CO<sub>2</sub>(C<sub>1-8</sub>алкил) и -CO<sub>2</sub>(C<sub>6</sub>арил). Специалист в данной области техники сможет легко выбрать подходящее замещение, исходя из стабильности, а также фармакологической и синтетической активности соединения по настоящему изобретению.

Применяемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемая композиция" относится к композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение, раскрытое в данном документе, которое составлено с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями.

Применяемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемый носитель" относится ко всевозможным растворителям, дисперсионным средам, покрытиям, изотоническим и замедляющим всасывание средствам и т. п., которые являются совместимыми с фармацевтическим введением. Применение таких сред и средств для фармацевтически активных веществ широко известно в данной области техники. Композиции также могут содержать другие активные соединения, обеспечивающие вспомогательные, дополнительные или расширенные терапевтические функции.

Термин "трижды негативный рак молочной железы" или "TNBC" применяют в данном документе для обозначения рака молочной железы, который характеризуется опухолями с менее чем 10% клеток, положительных по рецептору эстрогена и рецептору прогестерона и с отсутствием амплификации HER2, а также пациентами, которые не являются кандидатами для эндокринной терапии (Dawood 2010). TNBC имеет тенденцию быть более агрессивным, чем другие типы рака молочной железы, и, следовательно, с большей вероятностью распространится за пределы молочной железы и/или рецидивирует после лечения.

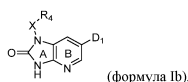
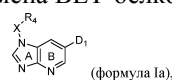
Термин "иммунотерапевтическое средство" применяют в данном документе для обозначения средств, применяемых для лечения заболевания путем активации или подавления иммунной системы.

Термин "ингибитор иммунных контрольных точек" применяют в данном документе для обозначения терапевтических средств, которые нацелены воздействовать на иммунные контрольные точки.

Иллюстративные варианты осуществления настоящего изобретения

Как обобщено выше, в настоящем изобретении представлены способы лечения TNBC с применением комбинированной терапии, которая включает введение ингибитора бромодомена ВЕТ-белков формулы Ia или формулы Ib или его фармацевтически приемлемых соли или сокристалла и второго терапевтического средства нуждающегося в этом субъекту.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлен способ лечения TNBC, включающий введение ингибитора бромодомена ВЕТ-белков формулы Ia или формулы Ib



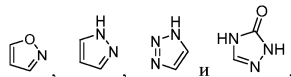
или его стереоизомера, таутомера, фармацевтически приемлемой соли, или сокристалла, или гидрата вместе со вторым терапевтическим средством, где:

кольцо А и кольцо В могут быть необязательно замещены группами, независимо выбранными из водорода, дейтерия,  $-NH_2$ , amino,  $(C_4-C_6)$ гетероцикла,  $(C_4-C_6)$ карбоцикла, галогена,  $-CN$ ,  $-OH$ ,  $-CF_3$ ,  $(C_1-C_6)$ алкила,  $(C_1-C_6)$ тиоалкила,  $(C_1-C_6)$ алкенила и  $(C_1-C_6)$ алкокси;

X выбран из  $-NH-$ ,  $-CH_2-$ ,  $-CH_2CH_2-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2-$ ,  $-CH_2CH_2O-$ ,  $-CH_2CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2S-$ ,  $-C(O)-$ ,  $-C(O)CH_2-$ ,  $-C(O)CH_2CH_2-$ ,  $-CH_2C(O)-$ ,  $-CH_2CH_2C(O)-$ ,  $-C(O)NH-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-C(O)S-$ ,  $-C(O)NHCH_2-$ ,  $-C(O)OCH_2-$ ,  $-C(O)SCH_2-$ , где один или несколько атомов водорода могут быть независимо заменены на дейтерий, гидроксил, метил, галоген,  $-CF_3$ , кетон, и где атом S может быть окислен до сульфоксида или сульфона;

$R_4$  выбран из необязательно замещенных 3-7-членных карбоциклов или гетероциклов и

$D_1$  выбран из следующих 5-членных моноциклических гетероциклов:



которые необязательно замещены водородом, дейтерием,  $(C_1-C_4)$ алкилом,  $(C_1-C_4)$ алкокси, amino, галогеном, амидом,  $-CF_3$ ,  $-CN$ ,  $-N_3$ ,  $(C_1-C_4)$ кетонном,  $-S(O)-(C_1-C_4)$ алкилом,  $-SO_2-(C_1-C_4)$ алкилом,  $-(C_1-C_4)$ тиоалкилом,  $-COOH$  и/или сложным эфиром, каждый из которых может быть необязательно замещен водородом, F, Cl, Br,  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-NHMe$ ,  $-OMe$ ,  $-SMe$ , оксо и/или тио-оксо.

Соединения формул Ia и Ib, в том числе соединение I, были описаны ранее в международной патентной публикации WO 2015/002754, включенной в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте, и в частности для описания соединений формулы Ia и формулы Ib, в том числе соединения I, их синтеза и демонстрации их активности как ингибитора бромодомена ВЕТ-белков.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор бромодомена ВЕТ-белков формулы Ia или формулы Ib выбран из

1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-этил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амина;

1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амина;

N,1-добензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амина;

1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-(пиридин-3-илметил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амина;

4-(1-бензил-2-(пирролидин-1-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-6-ил)-3,5-диметилизоксазола;

4-(2-(азетидин-1-ил)-1-(циклопентилметил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-6-ил)-3,5-диметилизоксазола;

1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амина;

1-(циклопентилметил)-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амина;

4-амино-1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2(3H)-она;

4-амино-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1-(4-метоксибензил)-1H-бензо[d]имидазол-2(3H)-она;

4-амино-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1-(1-фенилэтил)-1H-бензо[d]имидазол-2(3H)-она;

4-амино-1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-3-метил-1H-бензо[d]имидазол-2(3H)-она

или их фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен способ лечения ТМВС, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту ингибитора бромодомена ВЕТ-белков, выбранного из 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амина (соединение I), 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амина и их фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов, одновременно с другим терапевтическим средством.

В одном варианте осуществления второе терапевтическое средство представляет собой ингибитор PARP. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PARP выбран из олапариба, талазопариба, рупапариба, велипариба, нирапариба, памипариба, CEP9722 и E7016.

В одном варианте осуществления второе терапевтическое средство представляет собой олапариб.

В одном варианте осуществления второе терапевтическое средство представляет собой талазопариб.



В одном варианте осуществления субъект ранее подвергался лечению с помощью терапии рака молочной железы.

В одном варианте осуществления субъект ранее подвергался лечению с помощью химиотерапии.

В одном варианте осуществления субъект ранее подвергался лечению с помощью ингибитора PARP.

В одном варианте осуществления субъект ранее подвергался лечению с помощью ингибитора PARP в комбинации с иммунотерапевтическим средством.

В одном варианте осуществления субъект ранее подвергался лечению с помощью комбинации PARP с ингибитором иммунных контрольных точек.

В одном варианте осуществления у субъекта ранее наблюдалось прогрессирование заболевания при лечении с помощью ингибитора PARP.

В одном варианте осуществления у субъекта ранее наблюдалось прогрессирование заболевания при лечении с помощью ингибитора PARP в комбинации с иммунотерапевтическим средством.

В одном варианте осуществления субъект ранее подвергался лечению с помощью комбинированной терапии, содержащей абраксан в качестве одного из терапевтических средств.

В одном варианте осуществления субъект ранее подвергался лечению с помощью иммунотерапии.

В одном варианте осуществления у субъекта ранее наблюдалось прогрессирование заболевания при лечении с помощью иммунотерапии.

В одном варианте осуществления субъект не демонстрировал признаков прогрессировать заболевания в ходе лечения препаратами платины ни в режиме неоадьювантной терапии, ни в условиях метастазирования. Для субъектов, получающих платину в условиях неоадьювантной терапии, между последней дозой лечения на основе платины и включением в исследование должно пройти по меньшей мере 12 месяцев.

В одном варианте осуществления субъект ранее подвергался лечению с помощью комбинированной терапии, содержащей тецентрик в качестве одного из терапевтических средств.

В одном варианте осуществления ингибитор бромодомена ВЕТ-белков представляет собой фармацевтически приемлемые соль или сокристалл соединения I. В одном варианте осуществления ингибитор бромодомена ВЕТ-белков представляет собой мезилатную соль или сокристалл соединения I.

В одном варианте осуществления субъектом является человек.

В одном варианте осуществления субъект с раком молочной железы имеет одну или обе терминальные мутации BRCA1 и BRCA2.

В одном варианте осуществления субъект с TNBC имеет одну или обе терминальные мутации BRCA1 и BRCA2.

В одном варианте осуществления субъект с раком молочной железы не несет терминальных мутаций BRCA1 или BRCA2.

В одном варианте осуществления субъект с TNBC не несет терминальных мутаций BRCA1 или BRCA2.

В одном варианте осуществления субъект с раком молочной железы имеет соматические мутации BRCA1 и BRCA2.

В одном варианте осуществления субъект с TNBC имеет соматические мутации BRCA1 и BRCA2.

В одном варианте осуществления субъект с раком молочной железы имеет соматические мутации либо BRCA1, либо BRCA2.

В одном варианте осуществления субъект с TNBC имеет соматические мутации либо BRCA1, либо BRCA2.

В одном варианте осуществления субъект с раком молочной железы имеет мутации или изменения, которые влияют на экспрессию генов BRCA1 и/или BRCA2, в том числе метилирование промотора гена BRCA1 или BRCA2, которое предотвращает его экспрессию.

В одном варианте осуществления субъект с TNBC имеет мутации или изменения, которые влияют на экспрессию генов BRCA1 и/или BRCA2, в том числе метилирование промотора гена BRCA1 или BRCA2, которое предотвращает его экспрессию.

В одном варианте осуществления субъект с раком молочной железы имеет одну или несколько соматических мутаций генов, вовлеченных в гомологичную рекомбинацию (HR) или в негомологичное соединение концов (NHEJ), в том числе

ATM, CHEK2, NBN, PALB2, ATR, RAD51, RAD54, DSS1, RPA1, CHK1,

FANCD2, FANCA, FANCC, FANCM, BARD1, RAD51C, RAD51D, RIF1 и BRIP1.

В одном варианте осуществления субъект с TNBC имеет одну или несколько соматических мутаций генов, вовлеченных в гомологичную рекомбинацию (HR) или в негомологичное соединение концов (NHEJ), в том числе

ATM, CHEK2,

NBN, PALB2, ATR, RAD51, RAD54, DSS1, RPA1, CHK1, FANCD2, FANCA, FANCC,

FANCM, BARD1, RAD51C, RAD51D, RIF1 и BRIP1.

В одном варианте осуществления субъект с раком молочной железы имеет одну или несколько терминальных мутаций генов, вовлеченных в гомологичную рекомбинацию (HR) или в негомологичное соединение концов (NHEJ), в том числе

ATM, CHEK2, NBN, PALB2, ATR, RAD51, RAD54, DSS1, RPA1, CHK1,

FANCD2, FANCA, FANCC, FANCM, BARD1, RAD51C, RAD51D, RIF1 и BRIP1.

В одном варианте осуществления субъект с TNBC имеет одну или несколько терминальных мутаций генов, вовлеченных в гомологичную рекомбинацию (HR) или в негомологичное соединение концов (NHEJ), в том числе

ATM, CHEK2, NBN, PALB2, ATR, RAD51, RAD54, DSS1, RPA1, CHK1, FANCD2,

FANCA, FANCC, FANCM, BARD1, RAD51C, RAD51D, RIF1 и BRIP1.

В одном варианте осуществления у субъекта имеется опухоль, характеризующаяся профицитом гомологичной рекомбинации (HR).

В одном варианте осуществления у субъекта имеется опухоль, характеризующаяся дефицитом гомологичной рекомбинации (HRD).

В одном варианте осуществления соединение, выбранное из 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин (соединение I), 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин и их фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов, вводят дозой вместе с ингибитором PARP, что не приводит к дозозимитирующей тромбоцитопении.

В одном варианте осуществления соединение, выбранное из 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин (соединение I) и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин и их фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов, вводят дозой вместе с талазопарибом, что не приводит к тромбоцитопении в качестве дозозимитирующей токсичности.

В одном варианте осуществления ингибитор бромодомена ВЕТ-белков, описанный в данном документе, можно вводить одновременно с другим терапевтическим средством. Одновременно означает, что ингибитор бромодомена ВЕТ-белков, описанный в данном документе, и другое терапевтическое средство вводят с временным интервалом в несколько секунд (например, 15 с, 30 с, 45 с, 60 с или меньше), несколько минут (например, 1 мин, 2 мин, 5 мин или меньше, 10 мин или меньше, 15 мин или меньше) или 1-12 ч. При одновременном введении ингибитор бромодомена ВЕТ-белков и другое терапевтическое средство можно вводить за два или более введений, и они могут содержаться в отдельных композициях или лекарственных формах, которые могут содержаться в одной и той же или другой упаковке или упаковках.

В одном варианте осуществления ингибитор бромодомена ВЕТ-белков, описанный в данном документе, и ингибитор PARP (PARPi) можно вводить согласно одной или разным схемам.

В одном варианте осуществления соединения I, описанное в данном документе, и талазопариб можно вводить согласно одной или разным схемам, в том числе:

соединение I - постоянно + PARPi - постоянно;

соединение 1-3 недели приема, одна неделя перерыва + PARPi - постоянно;

соединение 1-2 недели приема, две недели перерыва + PARPi - постоянно;

соединение 1-3 недели приема, одна неделя перерыва + PARPi - 3 недели приема, одна неделя перерыва;

соединение 1-2 недели приема, две недели перерыва + PARPi - 3 недели приема, одна неделя перерыва;

соединение I - постоянно + PARPi - 3 недели приема, одна неделя перерыва или

соединение I - постоянно + PARPi - 2 недели приема, две недели перерыва.

В определенных вариантах осуществления соединения, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, для применения в видах комбинированной терапии по настоящему изобретению вводят в дозе, составляющей 25-200 мг/день. В некоторых вариантах осуществления соединения, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, вводят субъекту в дозе, составляющей 36-144 мг/день. В некоторых вариантах осуществления соединения, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, для применения в видах комбинированной терапии по настоящему изобретению вводят субъекту в дозе, составляющей 48 мг -96 мг/день. В некоторых вариантах осуществления соединения, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, для применения в видах комбинированной терапии по настоящему изобретению вводят субъекту в дозе, составляющей 48 мг, 60 мг, 72 мг или 96 мг/день. В любом из вариантов осуществления, описанных в данном документе, соединения, выбранное из соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, можно вводить в комбинации с 0,25 мг - 1 мг талазопариба. В некоторых вариантах осуществления 36-144 мг соединения I вводят в комбинации с 0,25-1 мг талазопариба.

В определенных вариантах осуществления соединения, выбранное из фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-

b]пиридин-2-амин, можно вводить в видах комбинированной терапии по настоящему изобретению при уровне дозировки, который обеспечивает воздействие на человека, аналогичное количеству, составляющему 25-200 мг/день соответствующего свободного основания. В определенных вариантах осуществления соединения, выбранное из фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, можно вводить в видах комбинированной терапии по настоящему изобретению при уровне дозировки, который обеспечивает воздействие на человека, аналогичное количеству, составляющему 36-144 мг/день соответствующего свободного основания. В определенных вариантах осуществления соединения, выбранное из фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, можно вводить в видах комбинированной терапии по настоящему изобретению при уровне дозировки, который обеспечивает воздействие на человека, аналогичное количеству, составляющему 48 мг - 96 мг/день соответствующего свободного основания. В любом из вариантов осуществления, описанных в данном документе, соединение, выбранное из фармацевтически приемлемых солей или сокристаллов соединения I и 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин, можно вводить в комбинации с 0,25 мг - 1 мг талазопариба.

#### Ссылки.

Afimos P, Bechter O, Awada A, Jungels C, Dumez H, Huyvaert N, Costermans J, Lee C, Meeus MA, Burkard U, Musa H, Zhao Y, Schoffski P. Phase I first-in-man trial of a novel bromodomain and extra-terminal domain (BET) inhibitor (BI 894999) in patients (Pts) with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 35, 2017 (suppl; abstr 2504)

Bareche Y, Venet D, Ignatiadis M, Afimos P, Piccart M, Rothe F, Sotiriou C. Unravelling triple-negative breast cancer molecular heterogeneity using an integrative multiomic analysis. *Ann Oncol*. 2018 Jan 22

Bauer, KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER) negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry. *Cancer*. 2007 May 1;109(9):1721-8

Berthon C, Raffoux E, Thomas X, Vey N, Gomez-Roca C, Yee K, Taussig DC, Rezai K, Roumier C, Herait P, Kahatt C, Quesnel B, Michallet M, Recher C, Lokiec F, Preudhomme C, Dombret H. Bromodomain inhibitor OTX015 in patients with acute leukaemia: a dose-escalation, phase I study. *Lancet Haematol*. 2016 Apr;3(4):e186-95

Copson ER, Maishman TC, Tapper WJ, Cutress RI, Greville-Heygate S, Altman DG, Eccles B, Gerty S, Durcan LT, Jones L, Evans DG, Thompson AM, Pharoah P, Easton DF,

Dunning AM, Hanby A, Lakhani S, Eccles R, Gilbert FJ, Hamed H, Hodgson S, Simmonds P, Stanton L, Eccles DM. Germline BRCA mutation and outcome in young-onset breast cancer (POSH): a prospective cohort study. *Lancet Oncol.* 2018 Feb;19(2):169-180. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30891-4

Dawood S, Triple-Negative Breast Cancer. *Drugs* (2010) 70(17):2247-2258

Kassam F, Enright K, Dent R, Dranitsaris G, Myers J, Flynn C, Fralick M, Kumar R, Clemons M. Survival outcomes for patients with metastatic triple-negative breast cancer: implications for clinical practice and trial design. *Clin Breast Cancer.* 2009 Feb;9(1):29-33

Litton J, Rugo HS, Ettl J, Hurvitz S, Gonçalves A, Lee K-H, Fehrenbacher L, Yerushalmi R, Mina LA, Martin M, Roché H, Im Y-H, Quek RGW, Tudor IC, Hannah AL, Eiermann W, Blum JL. EMBRACA: A phase 3 trial comparing talazoparib, an oral PARP inhibitor, to physician's choice of therapy in patients with advanced breast cancer and a germline BRCA mutation [abstract]. In: Proceedings of the 2017 San Antonio Breast Cancer Symposium; 2017 Dec 5-9; San Antonio, TX. Philadelphia (PA): AACR; Cancer Res 2018;78(4 Suppl):Abstract nr GS6-07

O'Shaughnessy J, Schwartzberg L, Danso MA, Miller KD, Rugo HS, Neubauer M, Robert N, Hellerstedt B, Saleh M, Richards P, Specht JM, Yardley DA, Carlson RW, Finn RS, Charpentier E, Garcia-Ribas I, Winer EP. Phase III study of iniparib plus gemcitabine and carboplatin versus gemcitabine and carboplatin in patients with metastatic triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol.* 2014 Dec 1;32(34):3840-7

Robson M, Im SA, Senkus E, Xu B, Domchek SM, Masuda N, Delaloge S, Li W, Tung N, Armstrong A, Wu W, Goessl C, Runswick S, Conte P. Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation. *N Engl J Med.* 2017 Aug 10;377(6):523-533

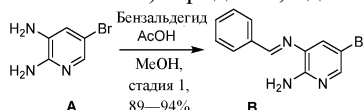
Stathis A, Zucca E, Bekradda M, Gomez-Roca C, Delord JP, de La Motte Rouge T, Uro-Coste E, de Braud F, Pelosi G, French CA. Clinical Response of Carcinomas Harboring the BRD4-NUT Oncoprotein to the Targeted Bromodomain Inhibitor OTX015/MK-8628. *Cancer Discov.* 2016 May;6(5):492-500

### Примеры

Среду для культивирования тканей и реагенты получали от ThermoFisher Scientific. Талазопариб, олапариб, нирапариб и велипариб получали от Selleck Chemicals.

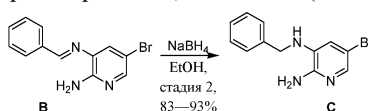
Пример 1. Синтез соединения I.

Стадия А. Синтез 5-бром-N<sup>3</sup>-(фенилметил)пиридин-2,3-диамина (соединение В)



Исходный материал А растворяли в метаноле и уксусной кислоте. Раствор охлаждали до 0-5°C и по каплям добавляли бензальдегид. Сразу после завершения реакции по каплям добавляли техническую воду и раствор NaHCO<sub>3</sub>, поддерживая низкую температуру (0-5°C). Твердое вещество отфильтровывали и промывали смесью метанол/вода 1:1, а затем сушили с получением соединения В при выходе 94% и чистоте +99%, как определено с помощью HPLC. <sup>1</sup>H-ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8,75 (1H), 8,04 (2H), 7,93 (1H), 7,65 (1H), 7,50-7,60 (3H).

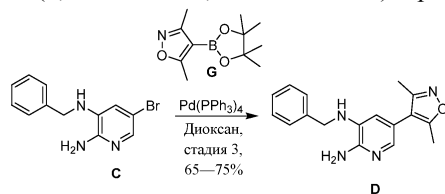
Стадия В. Синтез N<sup>3</sup>-бензил-5-бромпиридин-2,3-диамина (соединение С)



Соединение В растворяли в этаноле и порциями добавляли NaBH<sub>4</sub>, поддерживая температуру в диапазоне, составляющем 15-25°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 8-15 ч до завершения реакции, которое отслеживали с помощью HPLC. Добавляли раствор HCl, доводя pH до 6-7, а затем техническую воду, поддерживая температуру в диапазоне, составляющем 15-25°C. Смесь перемешивали в течение 1-5 ч, фильтровали и промывали смесью этанол/вода.

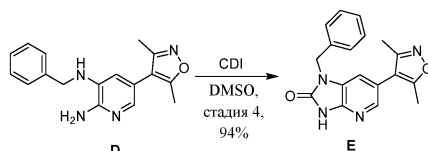
После сушки при ~60°C в течение 15-20 ч получали соединение С. <sup>1</sup>H-ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,2-7,4 (6H), 6,55 (1H), 5,70-5,83 (3H), 4,30 (2H).

Стадия С. Синтез N<sup>3</sup>-бензил-5-(3,5-диметил-1,2-оксазол-4-ил)пиридин-2,3-дипампа (соединение D)



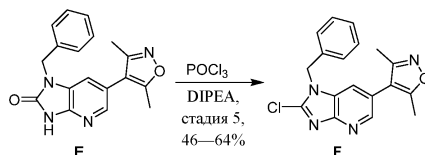
Соединение С, соединение G и тригидрат трехосновного фосфата калия смешивали, а затем добавляли 1,4-диоксан и техническую воду. Полученную смесь тщательно продували азотом. Добавляли тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0) и смесь нагревали до >90°C до тех пор, пока отношение соединения С к соединению D не составило не более 1%. После охлаждения реакцию смесь фильтровали, твердое вещество промывали 1,4-диоксаном и затем концентрировали. Добавляли техническую воду и смесь перемешивали до тех пор, пока количество соединения D, остающееся в маточных растворах, не составило не более 0,5%. Соединение D выделяли посредством фильтрации и последовательно промывали смесью 1,4-диоксан/вода и трет-бутилметилловым эфиром. Влажный осадок на фильтре перемешивали в метиленхлориде и силикагеле. После перемешивания смесь фильтровали, затем концентрировали. Смесь охлаждали и добавляли трет-бутилметилловый эфир. Продукт выделяли посредством фильтрации и сушили до тех пор, пока уровни метиленхлорида, трет-бутилметилового эфира и влаги не составили не более 0,5%. <sup>1</sup>H-ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,30-7,45 (4H), 7,20-7,25 (2H), 6,35 (1H), 5,65-5,80 (3H), 4,30-4,40 (2H), 2,15 (3H), 1,95 (3H).

Стадия D. Синтез 1-бензил-6-(3,5-диметил-1,2-оксазол-4-ил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-она (соединение E)



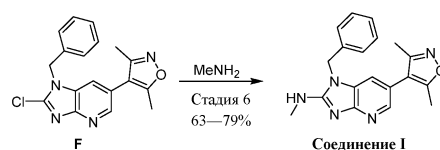
Карбонилдиимидазол в виде твердого вещества добавляли к перемешиваемой смеси соединения D и диметилсульфоксида. Смесь нагревали до тех пор, пока отношение соединения D к соединению E не составило не более 0,5%. Смесь охлаждали и добавляли техническую воду на протяжении нескольких часов. Полученную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение по меньшей мере 2 ч. Продукт выделяли посредством фильтрации и промывали технической водой. Перед сушкой с применением нагревания и вакуума проверяли, чтобы содержание диметилсульфоксида составляло не более 0,5%. Сушку завершали, когда уровень влаги составлял не более 0,5%, с получением соединения E. <sup>1</sup>H-ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11,85 (1H), 7,90 (1H), 7,20-7,45 (6H), 5,05 (2H), 3,57 (3H), 2,35 (3H), 2,15 (3H).

Стадия E. Синтез 4-[1-бензил-2-хлор-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-6-ил]-3,5-диметил-1,2-оксазола (соединение F)



Соединение E и оксихлорид фосфора смешивали, а затем обрабатывали диизопропилэтиламино (DIPEA), который можно добавлять по каплям. Полученную смесь нагревали в течение нескольких часов, охлаждали и отбирали образцы для проверки завершения реакции. Если отношение соединения E к соединению F составляло не более 0,5%, то реакцию завершали. В ином случае реакцию смесь нагревали в течение дополнительного времени и отбирали образцы для проверки, как указано выше. После завершения реакции смесь концентрировали, затем охлаждали. Добавляли этилацетат и смесь концентрировали под вакуумом несколько раз. К концентрату добавляли этилацетат (EtOAc), смесь охлаждали и затем добавляли в водный раствор бикарбоната натрия. Органическую фазу отделяли и органический слой промывали водным раствором бикарбоната натрия, а затем водой. Органическую фазу концентрировали, добавляли этилацетат и смесь концентрировали, чтобы гарантировать, что уровень влаги составляет не более 0,2%. Смесь в этилацетате обесцвечивали активированным углем. Смесь концентрировали и добавляли н-гептан. Продукт выделяли посредством фильтрации и сушили под вакуумом. Сушку завершали, когда содержание остаточной влаги, этилацетата и н-гептана составляло не более 0,5%. <sup>1</sup>H-ЯМР (MeOH-d<sub>4</sub>): δ 8,40 (1H), 7,90 (1H), 7,25-7,45 (5H), 5,65 (2H), 2,37 (3H), 2,22 (3H).

Стадия F. Синтез 1-бензил-6-(3,5-диметил-1,2-оксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин (соединение I)



Соединение F смешивали с метиламином в тетрагидрофуране (THF) и перемешивали при температуре окружающей среды до тех пор, пока отношение соединения F к соединению I не составило не более 0,1%, как определено с помощью HPLC. После завершения реакции смесь концентрировали под вакуумом, добавляли техническую воду и продукт выделяли посредством фильтрации. Осадок на фильтре промывали технической водой. Влажный осадок на фильтре растворяли в хлористоводородной кислоте и полученный раствор промывали метилхлоридом для удаления примесей. Водный раствор нейтрализовали раствором гидроксида натрия и соединение I выделяли посредством фильтрации, промывали технической водой и сушили под вакуумом. При необходимости удаления любого количества оставшейся хлористоводородной кислоты высушенный материал можно растворить в этаноле, обработать раствором гидроксида натрия в этаноле, а затем добавить техническую воду для осаждения продукта. Соединение I выделяли посредством фильтрации, промывали технической водой и сушили. <sup>1</sup>H-ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,96 (d, 1H, J=2,0 Гц), 7,42 (d, 1H, J=2,0 Гц), 7,37 (q, 1H, J=4,2 Гц), 7,32 (m, 2H), 7,26 (m, 1H), 7,24 (m, 2H), 5,30 (s, 2H), 3,00 (d, 3H, 4,5 Гц), 2,34 (s, 3H), 2,16 (s, 3H). <sup>13</sup>C-ЯМР (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 164,8, 158,4, 157,7, 156,0, 141,1, 136,4, 128,6 (2C), 127,5, 127,4, 127,2 (2C), 115,8, 114,2 (2C), 44,5, 29,3, 11,2, 10,3.

Пример 2. Кристаллическая форма мезилата соединения I.

Приблизительно 5 г соединения I растворяли в этаноле (115 мл) и добавляли раствор метансульфоновой кислоты в этаноле (10 мл, 158,7 мг/мл) при молярном соотношении 1:1. Смесь встряхивали при 50°C в течение 2 ч перед концентрированием до половины объема и перемешивали в течение ночи. Образованное твердое вещество (мезилатная соль/сокристалл формы I соединения I) выделяли, сушили и определяли его характеристики.

Мезилатную соль/сокристалл формы I соединения I также получали с применением других растворителей и смесей растворителей, включая ацетон и ацетонитрил.

Мезилатная соль/сокристалл формы I соединения I характеризовались XRPD, содержащей следующие пики при значениях, выраженных в градусах угла 2-тета при 8,4±0,2, 10,6±0,2, 11,7±0,2, 14,5±0,2, 15,3±0,2, 16,9±0,2, 18,2±0,2, 19,0±0,2, 19,9±0,2, 20,5±0,2, 22,6±0,2, 23,8±0,2, 24,5±0,2, и 27,6±0,2, как определено с помощью дифрактометра с применением трубки излучения Cu-Kα (фиг. 9).

Мезилатная соль/сокристалл формы I соединения I характеризовались кривой DSC, содержащей эндотермический пик при температуре, составляющей приблизительно 207°C (фиг. 10).

Характеристики мезилатной соли/сокристалла формы I соединения I определяли с помощью TGA с получением показанной на фиг. 10 термограммы, подтверждающей, что форма I соединения I представляет собой безводную форму.

Пример 3. Соединение I и талазопариб в клетках HCC1937 (мутантный BRCA1).

Синергическое подавление жизнеспособности клеток HCC1937 с помощью комбинации соединения I с талазопарибом.

Клетки HCC1937 (CRL-2336) высевали при плотности 1000 клеток на лунку в 96-луночные планшеты с плоским дном в среде RPMI-1640, содержащей 10% FBS и пенициллин/стрептомицин, и инкубировали в течение 24 ч при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Среду заменяли на среду RPMI-1640, содержащую 10% FBS с изменяемыми дозами либо соединения I, либо талазопароба в качестве монотерапии или комбинации обоих лекарственных средств, и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение 7 дней. Для каждой концентрации применяли лунки в трех повторностях, а лунки, содержащие только среду с 0,1% DMSO, применяли в качестве контроля. Для измерения жизнеспособности клеток по 100 мкл субстрата GF-AFC, разбавленного при соотношении 1:100 в буфере для анализа (набор для анализа жизнеспособности клеток CellTiter Fluor (Promega)), добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение дополнительных 30-90 мин. Флуоресценцию при возбуждении 380-400 нм/излучении 505 нм считывали на флуориметре и рассчитывали титр клеток в процентах относительно клеток, обработанных с помощью DMSO, после введения поправки на фон путем вычитания сигнала холостой лунки. Значения IC<sub>50</sub> для монотерапии рассчитывали с применением программного обеспечения GraphPad Prism. Количественную оценку синергии выполняли посредством расчета показателей аддитивности (CI) с применением программного обеспечения CalcuSyn (Biosoft) на основе алгоритма Чоу-Талалая (Chou and Talalay, 1984) и усреднения значений CI для эффективных доз (ED) 50, 75 и 90. Как показано на фиг. 1, добавление соединения I к талазопаробу приводило к усилению подавления жизнеспособности клеток по сравнению с каждой монотерапией, при этом среднее значение CI составляло 0,5.

Пример 4. Соединение I и олапариб в клетках HCC1937 (мутантный BRCA1).

Синергическое подавление жизнеспособности клеток HCC1937 с помощью комбинации соединения I с олапарибом.

Клетки HCC1937 (CRL-2336) высевали при плотности 1000 клеток на лунку в 96-луночные планшеты с плоским дном в среде RPMI-1640, содержащей 10% FBS и пенициллин/стрептомицин, и инкубировали в течение 24 ч при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Среду заменяли на среду RPMI-1640, содержащую 10% FBS с изменяемыми дозами либо соединения I, либо олапариба в качестве монотерапии или комбинации обоих лекарственных средств, и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение 7 дней. Клетки повторно обрабатывали, как описано выше, на 3-й или 4-й день. Для каждой концентрации применяли лунки в трех повторностях, а лунки, содержащие только среду с 0,1% DMSO, применяли в качестве контроля. Для измерения жизнеспособности клеток по 100 мкл субстрата GF-AFC, разбавленного при соотношении 1:100 в буфере для анализа (набор для анализа жизнеспособности клеток CellTiter Fluor (Promega)), добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение дополнительных 30-90 мин. Флуоресценцию при возбуждении 380-400 нм/излучении 505 нм считывали на флуориметре и рассчитывали титр клеток в процентах относительно клеток, обработанных с помощью DMSO, после введения поправки на фон путем вычитания сигнала холостой лунки. Значения IC<sub>50</sub> для монотерапии рассчитывали с применением программного обеспечения GraphPad Prism. Количественную оценку синергии выполняли посредством расчета показателей аддитивности (CI) с применением программного обеспечения CalcuSyn (Biosoft) на основе алгоритма Чоу-Талалая (Chou and Talalay, 1984) и усреднения значений CI для эффективных доз (ED) 50, 75 и 90. Как показано на фиг. 2, добавление соединения I к олапарибу приводило к усилению подавления жизнеспособности клеток по сравнению с каждой монотерапией, при этом среднее значение CI составляло 0,4.

Пример 5. Соединение I и велипариб в клетках HCC1937 (мутантный BRCA1).

Синергическое подавление жизнеспособности клеток HCC1937 с помощью комбинации соединения I с велипарибом.

Клетки HCC1937 (CRL-2336) высевали при плотности 10000 клеток на лунку в 96-луночные планшеты с плоским дном в среде RPMI-1640, содержащей 10% FBS и пенициллин/стрептомицин, и инкубировали в течение 24 ч при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Среду заменяли на среду RPMI-1640, содержащую 10% FBS с изменяемыми дозами либо соединения I, либо велипариба в качестве монотерапии или комбинации обоих лекарственных средств, и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение 7 дней. Клетки повторно обрабатывали, как описано выше, на 3-й или 4-й день. Для каждой концентрации применяли лунки в трех повторностях, а лунки, содержащие только среду с 0,1% DMSO, применяли в качестве контроля. Для измерения жизнеспособности клеток по 100 мкл субстрата GF-AFC, разбавленного при соотношении 1:100 в буфере для анализа (набор для анализа жизнеспособности клеток CellTiter Fluor (Promega)), добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение дополнительных 30-90 мин. Флуоресценцию при возбуждении 380-400 нм/излучении 505 нм считывали на флуориметре и рассчитывали титр клеток в процентах относительно клеток, обработанных с помощью DMSO, после введения поправки на фон путем вычитания сигнала холостой лунки. Значения IC<sub>50</sub> для монотерапии рассчитывали с применением программного обеспечения GraphPad Prism. Количественную оценку синергии выполняли посредством расчета показателей аддитивности (CI) с применением программного обеспечения CalcuSyn (Biosoft) на основе алгоритма Чоу-Талалая (Chou and Talalay, 1984) и усреднения значений CI для эффективных доз (ED) 50, 75 и 90. Как показано на фиг. 3, добавление соединения I к велипарибу приводило к усилению подавления жизнеспособности клеток по сравнению с каждой монотерапией, при этом среднее значение CI составляло 0,1.

Пример 6. Соединение I и олапариб в клетках HCC1599 (мутантный BRCA2).

Конфлюэнтные клетки HCC1599 (CRL-2331) разбавляли в соотношении 1:2 и высевали по 50 мкл/лунка в 96-луночные планшеты с плоским дном в среде RPMI-1640, содержащей 10% FBS и пенициллин/стрептомицин. 50 мкл/лунка среды с RPMI-1640, содержащей 10% FBS с изменяемыми дозами либо соединения I, либо олапариба в качестве монотерапии или комбинации обоих лекарственных средств, добавляли к клеткам и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение 3 дней. Для каждой концентрации применяли лунки в трех повторностях, а лунки, содержащие только среду с 0,2% DMSO, применяли в качестве контроля. Для измерения жизнеспособности клеток 20 мкл соединения тетразолия MTS (набор для анализа пролиферации клеток CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay (Promega)) добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение дополнительных 3 ч. Оптическую плотность при 490 нм считывали с использованием 96-луночного планшет-ридера (MultiSkan GO) и рассчитывали титр клеток в процентах относительно клеток, обработанных с помощью DMSO, после введения поправки на фон путем вычитания сигнала холостой лунки. Значения IC<sub>50</sub> для монотерапии рассчитывали с применением программного обеспечения GraphPad Prism. Количественную оценку синергии выполняли посредством расчета показателей аддитивности (CI) с применением программного обеспечения CalcuSyn (Biosoft) на основе алгоритма Чоу-Талалая (Chou and Talalay, 1984) и усреднения значений CI для эффективных доз (ED) 50, 75 и 90. Как показано на фиг. 4, добавление соединения I к олапарибу приводило к усилению подавления жизнеспособности клеток по сравнению с каждой монотерапией.

Пример 7. Соединение I и талазопариб в клетках BT549 (BRCA1/2 дикого типа).

Синергическое подавление жизнеспособности клеток BT549 с помощью комбинации соединения I с талазопарибом.

Клетки BT-549 (HTB-122) высевали при плотности 1000 клеток на лунку в 96-луночные планшеты с плоским дном в среде RPMI-1640, содержащей 10% FBS, 0,023 МЕ/мл инсулина и пенициллин/стрептомицин, и инкубировали в течение 24 ч при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Среду заменяли на среду RPMI-1640, содержащую 10% FBS, 0,023 МЕ/мл инсулина с изменяемыми дозами либо соединения I, либо талазопариба в качестве монотерапии или комбинации обоих лекарственных средств, и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение 7 дней. Клетки повторно обрабатывали, как описано выше, на 3-й или 4-й день. Для каждой концентрации применяли лунки в трех повторностях, а лунки, содержащие только среду с 0,1% DMSO, применяли в качестве контроля. Для измерения жизнеспособности клеток по 100 мкл субстрата GF-AFC, разбавленного при соотношении 1:100 в буфере для анализа (набор для анализа жизнеспособности клеток CellTiter Fluor (Promega)), добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение дополнительных 30-90 мин. Флуоресценцию при возбуждении 380-400 нм/излучении 505 нм считывали на флуориметре и рассчитывали титр клеток в процентах относительно клеток, обработанных с помощью DMSO, после введения поправки на фон путем вычитания сигнала холостой лунки. Значения IC<sub>50</sub> для монотерапии рассчитывали с применением программного обеспечения GraphPad Prism. Количественную оценку синергии выполняли посредством расчета показателей аддитивности (CI) с применением программного обеспечения CalcuSyn (Biosoft) на основе алгоритма Чоу-Талалая (Chou and Talalay, 1984) и усреднения значений CI для эффективных доз (ED) 50, 75 и 90. Как показано на фиг. 5, добавление соединения I к талазопарибу приводило к усилению подавления жизнеспособности клеток по сравнению с каждой монотерапией, при этом среднее значение CI составляло 0,2.

Пример 8. Соединение I и велипариб в клетках BT549 (BRCA1/2 дикого типа).

Синергическое подавление жизнеспособности клеток BT549 с помощью комбинации соединения I с велипарибом.

Клетки BT-549 (HTB-122) высевали при плотности 1000 клеток на лунку в 96-луночные планшеты с плоским дном в среде RPMI-1640, содержащей 10% FBS, 0,023 МЕ/мл инсулина и пенициллин/стрептомицин, и инкубировали в течение 24 ч при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Среду заменяли на среду RPMI-1640, содержащую 10% FBS, 0,023 МЕ/мл инсулина с изменяемыми дозами либо соединения I, либо олапариба в качестве монотерапии или комбинации обоих лекарственных средств, и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение 7 дней. Клетки повторно обрабатывали, как описано выше, на 3-й или 4-й день. Для каждой концентрации применяли лунки в трех повторностях, а лунки, содержащие только среду с 0,1% DMSO, применяли в качестве контроля. Для измерения жизнеспособности клеток по 100 мкл субстрата GF-AFC, разбавленного при соотношении 1:100 в буфере для анализа (набор для анализа жизнеспособности клеток CellTiter Fluor (Promega)), добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение дополнительных 30-90 мин. Флуоресценцию при возбуждении 380-400 нм/излучении 505 нм считывали на флуориметре и рассчитывали титр клеток в процентах относительно клеток, обработанных с помощью DMSO, после введения поправки на фон путем вычитания сигнала холостой лунки. Значения IC<sub>50</sub> для монотерапии рассчитывали с применением программного обеспечения GraphPad Prism. Количественную оценку синергии выполняли посредством расчета показателей аддитивности (CI) с применением программного обеспечения CalcuSyn (Biosoft) на основе алгоритма Чоу-Талалая (Chou and Talalay, 1984) и усреднения значений CI для эффективных доз (ED) 50, 75 и 90. Как показано на фиг. 6, добавление соединения I к велипарибу приводило к усилению подавления жизнеспособности клеток по сравнению с каждой монотерапией, при этом среднее значение CI составляло 0,2.

Пример 9. Соединение I и олапариб в клетках BT549 (BRCA1/2 дикого типа).

Синергическое подавление жизнеспособности клеток BT549 с помощью комбинации соединения I с олапарибом.

Клетки BT-549 (HTB-122) высевали при плотности 1000 клеток на лунку в 96-луночные планшеты с плоским дном в среде RPMI-1640, содержащей 10% FBS, 0,023 МЕ/мл инсулина и пенициллин/стрептомицин, и инкубировали в течение 24 ч при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Среду заменяли на среду RPMI-1640, содержащую 10% FBS, 0,023 МЕ/мл инсулина с изменяемыми дозами либо соединения I, либо велипариба в качестве монотерапии или комбинации обоих лекарственных средств, и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение 7 дней. Клетки повторно обрабатывали, как описано выше, на 3-й или 4-й день. Для каждой концентрации применяли лунки в трех повторностях, а лунки, содержащие только среду с 0,1% DMSO, применяли в качестве контроля. Для измерения жизнеспособности клеток по 100 мкл субстрата GF-AFC, разбавленного при соотношении 1:100 в буфере для анализа (набор для анализа жизнеспособности клеток CellTiter Fluor (Promega)), добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение дополнительных 30-90 мин. Флуоресценцию при возбуждении 380-400 нм/излучении 505 нм считывали на флуориметре и рассчитывали титр клеток в процентах относительно клеток, обработанных с помощью DMSO, после введения поправки на фон путем вычитания сигнала холостой лунки. Значения IC<sub>50</sub> для монотерапии рассчитывали с применением программного обеспечения GraphPad Prism. Количественную оценку синергии выполняли посредством расчета показателей аддитивности (CI) с применением программного обеспечения CalcuSyn (Biosoft) на основе алгоритма Чоу-Талалая (Chou and Talalay, 1984) и



усреднения значений CI для эффективных доз (ED) 50, 75 и 90. Как показано на фиг. 7, добавление соединения I к олапарибу приводило к усилению подавления жизнеспособности клеток по сравнению с каждой монотерапией, при этом среднее значение CI составляло 0,2.

Пример 10. Соединение I и нирапариб в клетках HCC-70 (BRCA1/2 дикого типа).

Синергическое подавление жизнеспособности клеток HCC-70 с помощью комбинации соединения I с нирапарибом.

Клетки HCC-70 высеивали при плотности 2500 клеток на лунку в 96-луночные планшеты с плоским дном в среде 1640-RPMI, содержащей 10% FBS и пенициллин/стрептомицин, и инкубировали в течение 24 ч при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Среду заменяли на 1640-RPMI, содержащую 10% FBS при постоянных соотношениях либо соединения I, либо нирапариба в качестве монотерапии или комбинации обоих лекарственных средств при четырех разных концентрациях (2× IC<sub>50</sub>, 1× IC<sub>50</sub>, 0,5× IC<sub>50</sub>, 0,25× IC<sub>50</sub>) и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение 7 дней. Клетки повторно обрабатывали, как описано выше, на 3-й или 4-й день. Для каждой концентрации применяли лунки в трех повторностях, а лунки, содержащие только среду с 0,1% DMSO, применяли в качестве контроля. Для измерения жизнеспособности клеток по 100 мкл субстрата GF-AFC, разбавленного при соотношении 1:100 в буфере для анализа (набор для анализа жизнеспособности клеток CellTiter Fluor (Promega)), добавляли в каждую лунку и инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение дополнительных 30-90 мин. Флуоресценцию при возбуждении 380-400 нм/излучении 505 нм считывали на флуориметре и рассчитывали титр клеток в процентах относительно клеток, обработанных с помощью DMSO, после введения поправки на фон путем вычитания сигнала пустой лунки. Значения IC<sub>50</sub> для монотерапии рассчитывали с применением программного обеспечения GraphPad Prism. Количественную оценку синергии выполняли посредством расчета показателей аддитивности (CI) с применением программного обеспечения CalcuSyn (Biosoft) на основе алгоритма Чоу-Талалая (Chou and Talalay, 1984) и усреднения значений CI для эффективных доз (ED) 50, 75 и 90. Как показано на фиг. 8, добавление соединения I к нирапарибу приводило к усилению подавления жизнеспособности клеток по сравнению с каждой монотерапией, при этом среднее значение CI составляло 0,2-0,4.

Пример 11. Клинические испытания.

Часть 1 может представлять собой открытую нерандомизированную эскалацию дозы соединения I в комбинации с талазопарибом у пациентов с TNBC без терминальных мутаций BRCA1/2 с целью оценки безопасности, фармакокинетики и активности. Будет использоваться стандартный групповой дизайн 3+3. Группы до 6 пациентов будут включены в исследование каждого уровня дозы, и каждый пациент будет участвовать только в одной группе. Каждый цикл будет длиться 28 дней. Эскалация дозы будет продолжаться после того, как все пациенты, включенные в группу, завершат 28-дневный период наблюдения DLT цикла 1. Токсичность будет оцениваться и регистрироваться в соответствии с Общими критериями терминологии для нежелательных явлений Национального института рака (NCI CTCAE), редакция 5.0. DLT определяется как клинически значимое нежелательное явление или лабораторное отклонение, которое считается возможным, вероятным или определенно связанным с исследуемым лекарственным средством и которое соответствует любому из следующих критериев.

Негематологическая клиническая токсичность 3 степени или выше, за исключением тошноты 3 степени или рвоты или диареи 3/4 степени, если они не сохраняются более 72 ч, несмотря на максимальную медикаментозную терапию. Повышение по меньшей мере на 2 степени тяжести утомляемости, наблюдаемой на исходном уровне.

Анемия 4 степени. Нейтропения 4 степени продолжительностью более 5 дней. Фебрильная нейтропения 3 степени или выше (температура ≥38,5°C). Тромбоцитопения 4 степени или тромбоцитопения 3 степени с клинически значимым кровотечением или любое требование к переливанию тромбоцитов. Любые другие лабораторные отклонения 3 или 4 степени, требующие госпитализации.

Значение ALT, превышающее верхнюю границу нормального диапазона более чем в 3 раза, с сопутствующим значением общего билирубина, превышающим верхнюю границу нормального диапазона более чем в 2 раза. Любая токсичность, которая приводит к более чем 25% пропущенных доз во время цикла 1 лечения. Определение максимальной переносимой дозы: MTD определяется как наивысший уровень дозы соединения I в комбинации с талазопарибом, при котором не более 1 из 6 пациентов испытывают DLT в течение первого цикла терапии.

Часть 2. 2-этапный дизайн по Simon.

Этап 1. После того, как рекомендуемая доза соединения I в комбинации с талазопарибом будет определена в части исследования с эскалацией дозы, 17 пациентов будут включены в 1-й этап исследования с 2-этапным дизайном по Simon для оценки объективного ответа (полный ответ (CR), частичный ответ (PR) или стабилизация заболевания (SD) в течение ≥4 циклов) по RECIST 1.1. Если будет наблюдаться ≥4 объективных ответов, исследование перейдет ко 2 этапу. Популяция пациентов на 2-ом этапе исследования с дизайном по Simon является такой же, что и популяция пациентов в части с эскалацией дозы.

Этап 2. Если по меньшей мере 4 пациента на этапе 1 имеют объективный ответ (CR, PR или SD для ≥4 циклов) по RECIST 1.1, 20 пациентов будут включены во 2-й этап исследования с 2-этапным дизайном по Simon. Пациенты будут получать рекомендуемые суточные дозы соединения I в комбинации с талазопарибом. Пациенты могут продолжать прием соединения I в комбинации с талазопарибом до рент-

генографического или клинического прогрессировать, неприемлемой токсичности, необходимости не-протокольной терапии или исключения пациента из исследования.

Пример 12. Индукция иммунного ответа и передачи сигналов от интерферона гамма в опухоли в ответ на комбинацию соединения I с энзалутамидом у пациентов с mCRPC.

Пациентам с mCRPC, ранее демонстрировавшим прогрессирование заболевания при применении энзалутамида, вводили QD дозы соединения I при продолжении приема энзалутамида. Биоптат опухоли получали при скрининге (при котором пациент получал только энзалутамид) и после 8 недель приема энзалутамида и соединения I. Полнотранскриптомный (RNA-Seq) анализ осуществляли на двух биоптатах и выравнивание осуществляли с применением программного обеспечения STAR, а также осуществляли анализ дифференциальной экспрессии генов с Cufflinks с применением параметров по умолчанию BaseSpace™ Sequence Hub с декабря 2018 года по август 2019 года. Дополнительный независимый анализ осуществляли с применением программного обеспечения для выравнивания SALMON и BioConductor. Идентификацию сигнатур дифференциальной экспрессии генов осуществляли с применением анализа представленности групп генов (GSEA) с применением сигнатур генов из Базы данных молекулярных сигнатур (Subramanian A, Tamayo P, et al. (2005, PNAS 102, 15545-15550); Liberzon A, et al. (2011, Bioinformatics 27, 1739-1740); Liberzon A, et al. (2015, Cell Systems 1, 417-425)). Как показано на фиг. 12A, для нескольких связанных с иммунной системой сигнатур отмечено значительное повышение уровня экспрессии в биоптате, полученном во время лечения. Релевантные группы генов указаны на фигуре, а гены, входящие в состав каждой группы генов, можно загрузить из MSigDB. На фиг. 12B некоторые из генов, обнаруженных в данных группах генов, показаны в виде графика для демонстрации степени повышения уровня экспрессии. Повышение уровня экспрессии групп генов, вовлеченных в адаптивный иммунный ответ, презентацию антигена и передачу сигнала от интерферона-гамма, предполагает, что комбинация соединения I и энзалутамида индуцировала иммунореактивный фенотип. Учитывая, что ингибиторы PARP продемонстрировали способность увеличивать ответ на ингибиторы иммунных контрольных точек за счет усиления иммунного ответа пациента, это указывает на то, что комбинация соединения I, ингибитора PARP и ингибитора иммунных контрольных точек также может усиливать ответы в контексте рака молочной железы.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения трижды негативного рака молочной железы (TNBC), включающий введение нуждающемуся в этом субъекту ингибитора бромодомена ВЕТ-белков, выбранного из 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-N-метил-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин (соединение I), 1-бензил-6-(3,5-диметилизоксазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиридин-2-амин и их фармацевтически приемлемых солей, со вторым терапевтическим средством, которое представляет собой ингибитор PARP.

2. Способ по п. 1, где ингибитор бромодомена ВЕТ-белков представляет собой соединение I.

3. Способ по п. 1 или 2, где ингибитор бромодомена ВЕТ-белков представляет собой мезилатную соль формы I соединения I.

4. Способ по п. 1, дополнительно включающий введение ингибитора иммунных контрольных точек.

5. Способ по любому из пп. 1-3, где ингибитор PARP выбран из олапариба, талазопариба, рукапариба, велипариба, нирапариба, памипариба, CEP9722 и E7016.

6. Способ по любому из пп. 1-3, где ингибитор PARP представляет собой талазопариб.

7. Способ по любому из пп. 1-6, где субъект ранее подвергался лечению с помощью терапии рака молочной железы.

8. Способ по п. 7, где терапия рака молочной железы представляет собой химиотерапию.

9. Способ по п. 7, где терапия рака молочной железы представляет собой иммунотерапию.

10. Способ по любому из пп. 1-9, где у субъекта ранее наблюдалось прогрессирование заболевания при лечении с помощью ингибитора PARP.

11. Способ по любому из пп. 1-10, где субъект является человеком.

12. Способ по любому из пп. 1-11, где субъект с раком молочной железы имеет одну или обе терминальные мутации BRCA1 и BRCA2.

13. Способ по любому из пп. 1-11, где субъект с раком молочной железы не несет терминальных мутаций BRCA1 или BRCA2.

14. Способ по любому из пп. 1-11, где субъект с раком молочной железы имеет соматические мутации либо BRCA1, либо BRCA2.

15. Способ по любому из пп. 1-11, где субъект с раком молочной железы имеет одну или несколько соматических мутаций генов, вовлеченных в гомологичную рекомбинацию (HR), выбранных из ATM, CHEK2, NBN, PALB2, ATR, RAD51, RAD54, DSS1, RPA1, CHK1, FANCD2, FANCA, FANCC, FANCM, BARD1, RAD51C, RAD51D, RIF1 и BRIP1.

16. Способ по любому из пп. 1-11, где субъект с раком молочной железы имеет одну или несколько терминальных мутаций генов, вовлеченных в гомологичную рекомбинацию (HR), выбранных из ATM, CHEK2, NBN, PALB2, ATR, RAD51, RAD54, DSS1, RPA1, CHK1, FANCD2, FANCA, FANCC, FANCM, BARD1, RAD51C, RAD51D, RIF1 и BRIP1.

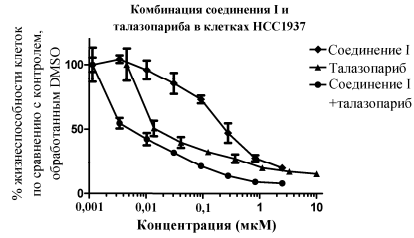
17. Способ по любому из пп. 1-11, где у субъекта имеется опухоль, характеризующаяся профицитом

гомологичной рекомбинации (HR).

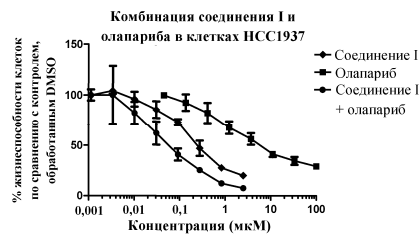
18. Способ по любому из пп.1-11, где у субъекта имеется опухоль, характеризующаяся дефицитом гомологичной рекомбинации (HRD).

19. Способ по любому из пп.1-18, где ингибитор бромодомена ВЕТ-белков вводят дозой вместе с ингибитором PARP, что не приводит к тромбоцитопении в качестве дозолIMITИРУЮЩЕЙ токсичности.

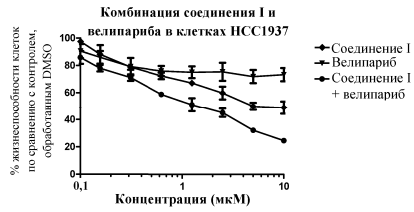
20. Способ по п.19, где ингибитор PARP представляет собой талазопариб.



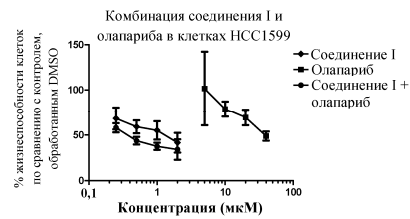
Фиг. 1



Фиг. 2



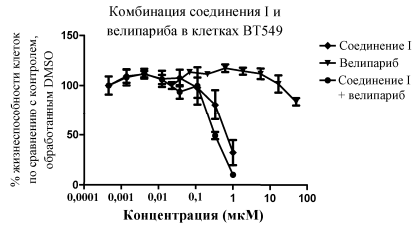
Фиг. 3



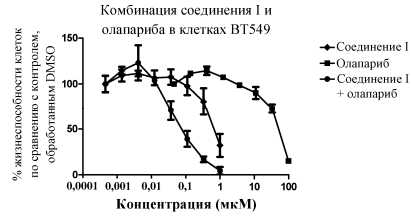
Фиг. 4



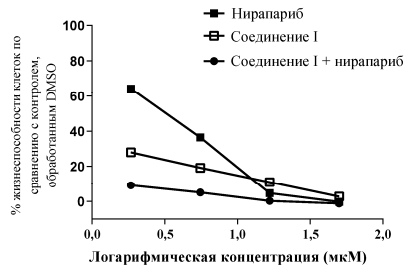
Фиг. 5



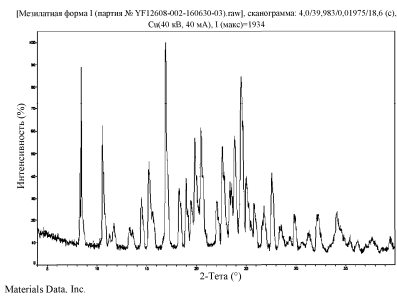
Фиг. 6



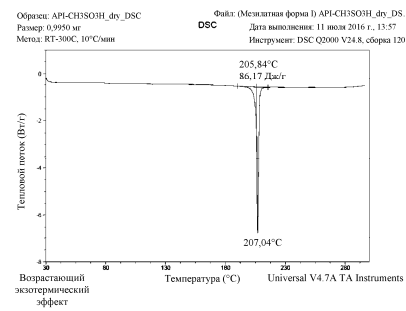
Фиг. 7



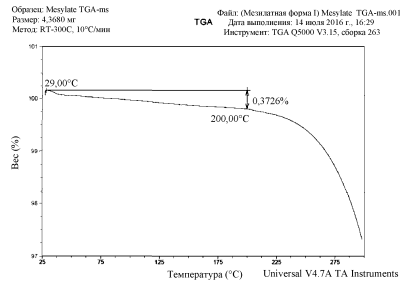
Фиг. 8



Фиг. 9

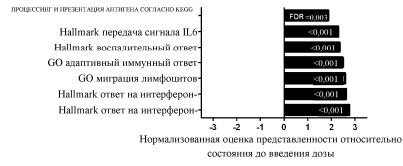


Фиг. 10

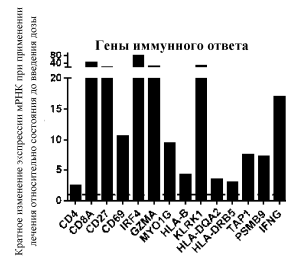


Фиг. 11

А) **Повышение уровня экспрессии генов иммунного ответа при применении лечения с помощью соединения I + элизалумада у пациента с mCRPC**



В)



Фиг. 12