

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **044461**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.08.29

(51) Int. Cl. *A61K 31/336* (2006.01)
A61K 35/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
202192757

(22) Дата подачи заявки
2020.04.09

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ

(31) **2019901280**

(32) **2019.04.12**

(33) **AU**

(43) **2022.02.11**

(86) **PCT/AU2020/050360**

(87) **WO 2020/206504 2020.10.15**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
КЬЮБИОТИКС ПТИ ЛТД (AU)

(72) Изобретатель:
**Гордон Виктория Энн, Реддел Пол
Уоррен, Бойль Глен Мэтью, Каллен
Джейсон Кингсли, Парсонс Питер
Гордон (AU)**

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Черкас Д.А., Игнатьев А.В., Путинцев
А.И., Билык А.В., Дмитриев А.В. (RU)**

(56) **WO-A1-2018170559**

WO-A1-2018018097

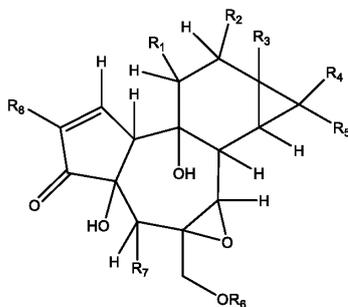
WO-A1-2007070985

MILLER et al.: "Dose Characterization of the Investigational Anticancer Drug Tigilanol Tiglate (EBC-46) in the Local Treatment of Canine Mast Cell Tumors", *Frontiers in Veterinary Science*, 9 April 2019, vol. 6, article 106. See whole document.

BARNETT et al.: "Optimising intratumoral treatment of head and neck squamous cell carcinoma models with the diterpene ester Tigilanol tiglate", *Investigational New Drugs*, February 2019, vol. 37, no. 1, pp. 1-8. See whole document.

BOYLE et al.: "Intra-Lesional Injection of the Novel PKC Activator EBC-46 Rapidly Ablates Tumors in Mouse Models" *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 10, e108887. See whole document.

(57) Настоящее изобретение относится к способам лечения опухолей, включающим локализованное введение, например внутриопухолево или местно, соединения эпокситиглиенона (в качестве монотерапии) в раковые опухоли для генерирования системного противоракового абскопального (анестетического) эффекта и/или эффекта "свидетеля", где указанное соединение представляет собой соединение формулы (I)



... (I)

где заместители R₁-R₈ являются такими, как определено в описании изобретения.

B1**044461****044461****B1**

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к локализованному введению, например внутриопухолевому или местному, соединения эпоксиглиениона (в качестве монотерапии) в раковые опухоли для создания системного противоракового абскопального эффекта и/или эффекта "свидетеля".

Предпосылки создания изобретения

Абскопальные эффекты представляют собой явление, наблюдаемое в некоторых метастатических видах рака, и включают спонтанную регрессию не поддающихся лечению несмежных (т.е. не являющихся соседними) и удаленных опухолей после локализованного лечения, доставляемого к одной или более целевым опухолям.

Термин "абскопальный", впервые введенный в 1950-х годах, имеет латинское происхождение (ab: "вдали от" и scopus: "цель") и используется в отношении регрессии опухолей, отдаленных от первичного очага, поддающегося лечению с помощью радиотерапии. В литературе по радиотерапии абскопальные эффекты отличаются от второго типа "нецелевого" ответа, а именно эффекта "свидетеля", который возникает только в клетках, соседних с подвергнутой лечению опухолью (Prize и O'Sullivan 2009). Абскопальный эффект и эффект "свидетеля" различаются по лежащим в их основе причинным механизмам. Эффекты "свидетеля" обусловлены в первую очередь клеточной стресс-сигнализацией с участием активных форм кислорода и высвобождением цитокинов (например, трансформирующего фактора роста- β 1, фактора некроза опухоли- α) и лигандов смерти, которые переносятся непосредственно в клетки, прилегающие к области облучения (Prize и O'Sullivan 2009). Напротив, абскопальные эффекты опосредованы иммунной системой и включают индукцию воспалительного ответа, некроз облученных опухолевых клеток, стимуляцию дендритных клеток и активацию цитотоксических Т-клеток (Demaria et al. 2004).

Абскопальные эффекты, индуцированные лучевой монотерапией, были зарегистрированы для нескольких видов рака, включая меланому, плоскоклеточную карциному, почечно-клеточную карциному, аденокарциному молочной железы, гепатоцеллюлярную карциному, карциному клеток Меркеля, медуллярную карциному и лимфоцитарную лимфому (Abuodeh et al., 2016). До 2010 года также было небольшое количество сообщений об абскопальных эффектах, ассоциированных с другими локально вводимыми монотерапиями, включая фотодинамическую терапию и некоторые внутриопухолево доставляемые агенты, такие как бацилла Кальметта-Герена (*Bacillus Calmette-Guerin*, BCG), например Mastrangelo et al. 1975. Однако, при индивидуальном применении облучения или этих других локально вводимых видов терапии, абскопальные события были чрезвычайно редки и в значительной степени непредсказуемы. Например, в обзоре сообщений об абскопальных эффектах при лучевой монотерапии было найдено лишь 46 случаев, зарегистрированных в период с 1969 по 2014 год, несмотря на то, что лечение получали миллионы пациентов по всему миру (Abuodeh et al., 2016). Неудивительно, что абскопальный эффект оставался относительно неясным и в основном игнорируемым явлением до появления иммунотерапии рака.

После научных прорывов в отношении понимания роли иммунной системы при раке ключевым направлением в разработке новых противораковых терапевтических средств стало направленное воздействие и модуляция иммунных ответов при раке. Первая волна этих новых иммуномодулирующих терапий, системно и локально доставляемых способов лечения, достигла клинического применения, и все чаще стали появляться сообщения об абскопальных эффектах. Действительно, системные абскопальные эффекты имеют фундаментальное значение для эффективности некоторых способов лечения, таких как доставляемые внутриопухолево онколитические вирусы, например одобренный FDA талимоген лахерпарепек (T-VEC) для лечения прогрессирующих меланом. На основе успеха и некоторых ограничений этих иммунотерапий первого поколения возник большой интерес к идентификации других иммуноонкологических агентов. Одна группа стратегий включает применение внутриопухолевых способов лечения (по отдельности или в комбинации с другими способами лечения) для индукции сильного локального праймирования противоракового иммунитета, который превращает иммуносупрессивные ("холодные" опухоли) в иммуностимулирующие или "горячие" опухоли, которые затем вызывают системные абскопальные эффекты за счет циркуляции надлежащим образом активированных противоопухолевых иммунных клеток (Aznar et al. 2016; Marabelle et al. 2017). По сути, эти подходы нацелены на использование поддающейся локальному лечению опухоли в качестве собственной "вакцины *in situ*" для генерирования абскопального эффекта в не поддающихся лечению опухолях (Hammerich et al. 2015). Был изучен ряд возможных механизмов для содействия этому иммунному праймированию, включая непосредственную активацию эффекторных функций клеток врожденного и адаптивного иммунитета, ингибирование высоко иммуносупрессивного микроокружения опухоли, усиление высвобождения и презентации антигена живыми опухолевыми клетками, или стимуляцию регулируемых форм смерти опухолевых клеток, которые вызывают адаптивные иммунные ответы на антигены, ассоциированные с мертвыми опухолевыми клетками. Примеры агентов, которые в настоящее время исследуются на применение в качестве таких внутриопухолевых иммуностимуляторов, включают онколитические вирусы и пептиды, аттенуированные бактериальные вакцины, цитокины (например, IL-2, IL-12, гранулоцитарно-моноцитарный колоние-стимулирующий фактор), клетки иммунной системы (например, дендритные клетки, Т-клетки, несущие химерный антигенный рецептор), агонисты паттерн-распознающего рецептора (например, агонисты Toll-

подобного рецептора (TLR), такие как имиквимод), небольшую группу общепринятых цитотоксических химиотерапевтических агентов (например, доксорубин, оксалиплатин, циклофосфамид) и антитела, нацеленные на контрольные точки иммунитета (например, анти-CTLA-4). Однако существуют значительные потенциальные технические и практические препятствия для возможного перевода многих из этих агентов в широкое клиническое применение, особенно для биопрепаратов, обладающих относительно высокой стоимостью и возможной неблагоприятной иммунологической токсичностью (см., например, Boutros et al. 2016; Marin-Acevedo et al 2018). Это привело к предположению о том, что малые молекулы, чаще всего, игнорировали при поиске новых иммуноонкологических агентов, и что малые молекулы могут предложить несколько уникальных технических и коммерческих преимуществ, включая обеспечение доступа к внутриклеточным мишеням заболеваний, не поддающихся лечению с помощью биологических иммунотерапии, а также простоту их применения, обычно более низкие затраты и более простые цепочки поставок (Adams et al. 2015).

Эпокситиглиеноны представляют собой мощные противоопухолевые соединения, которые активны в отношении ряда видов рака *in vivo* (Boyle et al. 2014; Barnett et al. 2019; Miller et al. 2019). Эпокситиглиеноны применяют в качестве локальной монотерапии внутриопухолево или местно, с дозированием в зависимости от размера целевой опухоли (Miller et al. 2019). Эпокситиглиеноны разрушают опухоли, в которые их вводят, вызывая быстрый геморрагический некроз опухолевой массы, включая онкоз опухолевых клеток и нарушение сосудистой сети опухоли (Boyle et al. 2014). Эпокситиглиеноны действуют в том месте, куда их вводят, и от них не ожидают системного ответа при их введении в виде монотерапии. Например, в протоколе недавно завершенных клинических исследований фазы I, впервые проводимых с участием людей, с использованием прототипа эпокситиглиенонового соединения тигиланола тиглата (Panizza et al., 2019), в которых присутствовало множество опухолей для лечения в рамках дозовой группы, лекарственное средство требовалось вводить индивидуально в каждую опухоль для обеспечения потенциальной эффективности. Недавно (WO2018/170559, пример 7, фиг. 7B) на строгой модели сингенной меланомы иммунокомпетентных мышей было продемонстрировано, что эпокситиглиеноновые соединения, используемые в комбинации с ингибиторами контрольных точек иммунитета (ICI), более эффективно удаляют не только локально обработанную целевую опухоль, но также и некоторые смежные не подверженные лечению опухоли. Этот системный эффект не наблюдался в этой или других протестированных моделях опухолей мышей, когда каждый агент (эпокситиглиенон или ICI) применяли индивидуально.

Настоящее изобретение основано на том неожиданном факте, обнаруженном в клинических исследованиях на пациентах-людях и собаках, что соединения эпокситиглиенона при их доставке в виде локальной монотерапии к одной или более целевым опухолям в ряде иммуногенных типов рака (т.е. типов рака, которые, как известно, имеют высокую мутационную нагрузку), также могут стимулировать системный абскопальный эффект и удалять несмежные и отдаленные метастатические опухоли, в которые лекарственное средство не вводилось.

Краткое описание изобретения

В одном аспекте настоящего изобретения предложен способ стимулирования регрессии по меньшей мере одной нецелевой опухоли у субъекта с несколькими опухолями, при этом указанный способ включает введение по меньшей мере в одну целевую опухоль соединения 6,7-эпокситиглиенона или его фармацевтически приемлемой соли; где по меньшей мере одна целевая опухоль и по меньшей мере одна нецелевая опухоль являются иммуногенными опухолями, и где введение представляет собой локализованное введение по меньшей мере в одну целевую опухоль.

В другом аспекте изобретения предложено применение соединения 6,7-эпокситиглиенона или его фармацевтически приемлемой соли в изготовлении лекарственного средства для стимулирования регрессии по меньшей мере одной нецелевой опухоли у субъекта с несколькими опухолями; где лекарственное средство предназначено для локализованного введения по меньшей мере в одну целевую опухоль, и по меньшей мере одна целевая опухоль и по меньшей мере одна нецелевая опухоль являются иммуногенными опухолями.

В дополнительном аспекте изобретения предложено соединение 6,7-эпокситиглиенона или его фармацевтически приемлемая соль для применения в стимулировании регрессии по меньшей мере одной нецелевой опухоли у субъекта с несколькими опухолями; где соединение 6,7-эпокситиглиенона предназначено для локализованного введения по меньшей мере в одну целевую опухоль, и по меньшей мере одна целевая опухоль и по меньшей мере одна нецелевая опухоль являются иммуногенными опухолями.

Краткое описание фигур

Фиг. 1 представляет собой графическое отображение ответа подвергаемых лечению (квадраты) и не подвергаемых лечению (кружки) опухолей B16-F10 у контрольных индивидуумов, у которых одна опухоль подвергалась лечению носителем (а), и у индивидуумов, у которых одна опухоль подвергалась лечению с использованием 7,5 мкг соединения 1 (b).

Фиг. 2 представляет собой графическое отображение ответа подвергаемых лечению (квадраты) и не подвергаемых лечению (кружки) опухолей Рапс02 у контрольных индивидуумов, у которых одна опухоль была обработана носителем (а), и индивидуумов, у которых одна опухоль была подвергнута лечению с помощью 7,5 мкг соединения 1 (b).

Подробное описание изобретения

Определения

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистами в области, к которой принадлежит изобретение. Хотя на практике при осуществлении или исследовании настоящего изобретения могут быть использованы любые способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, что описаны в настоящем документе, в настоящем документе раскрыты предпочтительные способы и материалы. Для целей настоящего изобретения ниже приведены определения для следующих терминов.

Существительные в единственном числе (артикли "a" и "an") используются в настоящем документе для обозначения одного или более чем одного (т.е. по меньшей мере одного) грамматического объекта. Например, "элемент" означает один или несколько элементов.

Используемый в настоящем документе термин "около" относится к количеству, уровню, значению, габаритам, размеру или величине, которые варьируются на 30%, 25%, 20%, 15% или 10% от указанного количества, уровня, значения, габаритов, размера или величины.

Во всем настоящем описании, если из контекста не следует иное, слова "содержать", "содержит" и "содержащий" будут пониматься как подразумевающие включение указанной стадии или элемента, или группы стадий или элементов, но не как исключение любых других стадий или элементов, или групп стадий или элементов.

Термин "алкил" относится к необязательно замещенным линейным и разветвленным углеводородным группам, содержащим 1-20 атомов углерода. При необходимости, алкильная группа может иметь определенное количество атомов углерода, например, C_1 - C_6 алкил, который включает алкильные группы, содержащие 1, 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода в линейных или разветвленных расположениях. Неограничивающие примеры алкильных групп включают метил, этил, пропил, изопропил, бутил, втор- и трет-бутил, пентил, 2-метилбутил, 3-метилбутил, гексил, 2-метилпентил, 3-метилпентил, 4-метилпентил, 2-этилбутил, 3-этилбутил, гептил, октил, нонил, децил, ундецил, додецил, тридецил, тетрадецил и пентадецил.

Термин "алкенил" относится к необязательно замещенным ненасыщенным линейным или разветвленным углеводородам, содержащим 2-20 атомов углерода и имеющим по меньшей мере одну двойную связь. При необходимости алкенильная группа может содержать определенное количество атомов углерода, например C_2 - C_6 алкенил, который включает алкенильные группы, содержащие 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода в линейных или разветвленных расположениях. Неограничивающие примеры алкенильных групп включают этенил, пропенил, изопрпенил, бутенил, втор- и трет-бутенил, пентенил, гексенил, гепт-1,3-диен, гекс-1,3-диен, не-1,3,5-триен и т.п.

Термин "алкинил" относится к необязательно замещенным ненасыщенным линейным или разветвленным углеводородам, содержащим 2-20 атомов углерода, имеющим по меньшей мере одну тройную связь. При необходимости, алкинильная группа может содержать определенное количество атомов углерода, например C_2 - C_6 алкинил, который включает алкинильные группы, содержащие 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода в линейных или разветвленных расположениях. Неограничивающие примеры включают этинил, пропинил, бутинил, пентинил и гексинил.

Термины "циклоалкил" и "карбоциклический" относятся к необязательно замещенным насыщенным или ненасыщенным моноциклическим, бициклическим или трициклическим углеводородным группам. При необходимости циклоалкильная группа может содержать определенное число атомов углерода, например C_3 - C_6 циклоалкил представляет собой карбоциклическую группу, содержащую 3, 4, 5 или 6 атомов углерода. Неограничивающие примеры могут включать циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклопентенил, циклогексил, циклогексенил, циклогексадиенил и т.п.

Каждый алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, в виде индивидуальной единицы или как часть более крупной единицы, может быть необязательно замещен одним или несколькими необязательными заместителями, выбранными из группы, состоящей из C_{1-6} -алкила, C_{2-6} -алкенила, C_{3-6} -циклоалкила, оксо (=O), -OH, -SH, C_{1-6} -алкил-O-, C_{2-6} -алкенил-O-, C_{3-6} -циклоалкил-O-, C_{1-6} -алкил-S-, C_{2-6} -алкенил-S-, C_{3-6} -циклоалкил-S-, $-CO_2H$, $-CO_2C_{1-6}$ -алкила, $-NH_2$, $-NH(C_{1-6}$ -алкил), $-N(C_{1-6}$ -алкшф), $-NH(фенил)$, $-N(фенил)_2$, $-CN$, $-NO_2$, -галогена, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-SCF_3$, $-CHF_2$, $-OCHF_2$, $-SCHF_2$, -фенила, $-C_{1-6}$ -алкилфенила, -O-фенила, $-C(O)фенила$, $-C(O)C_{1-6}$ -алкила. Примеры подходящих заместителей включают, без ограничений, метил, этил, пропил, изопропил, бутил, втор-бутил, трет-бутил, винил, метокси, этокси, пропокси, изопропокси, бутокси, метилтио, этилтио, пропилтио, изопропилтио, бутилтио. гидроксид, гидроксиметил, гидроксид-этил, гидроксидпропил, гидроксидбутил, фтор, хлор, бром, йод, циано, нитро, $-CO_2H$, $-CO_2CH_3$, $-C(O)CH_3$, трифторметил, трифторметокси, трифторметилтио, дифторметил, дифторметокси, дифторметилтио, морфолино, амина, метиламина, диметиламина, фенил, фенокси, фенилкарбонил, бензил и ацетил.

Соединения эпокситиглиенона могут быть в форме фармацевтически приемлемых солей. Однако следует понимать, что фармацевтически неприемлемые соли также входят в объем изобретения, поскольку они могут быть полезны в качестве промежуточных продуктов при изготовлении фармацевтически приемлемых солей, или могут быть полезны при хранении или транспортировке. Подходящие фармацевтически приемлемые соли включают, без ограничений, соли фармацевтически приемлемых неорганических кислот, таких как хлористоводородная, серная, фосфорная, азотная, угольная, борная, сульфат-

миновая и бромистоводородная кислоты, или соли фармацевтически приемлемых органических кислот, таких как уксусная, пропионовая, масляная, винная, малеиновая, гидроксималеиновая, фумаровая, малеиновая, лимонная, молочная, муциновая, глюконовая, бензойная, янтарная, щавелевая, фенилуксусная, метансульфоновая, толуолсульфоновая, бензолсульфоновая, салициловая, сульфаниловая, аспартовая, глутаминовая, эдетовая, стеариновая, пальмитиновая, олеиновая, лауриновая, пантотеновая, дубильная, аскорбиновая и валериановая кислоты.

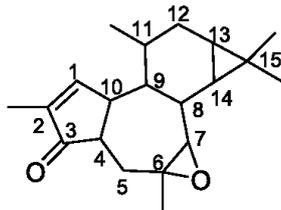
Основные соли включают, без ограничения, соли, образованные с фармацевтически приемлемыми катионами, такими как натрий, калий, литий, кальций, магний, аммоний и алкиламмоний.

Основные азотсодержащие группы могут быть кватернизированы такими агентами, как галогенид низшего алкила, такой как метил, этил, пропил и бутилхлориды, бромиды и йодиды; диалкилсульфаты, такие как диметил и диэтилсульфат; и другие.

Также будет понятно, что соединения эпокситиглиенона могут иметь центры асимметрии и, следовательно, способны существовать более чем в одной стереоизомерной форме. Таким образом, изобретение также относится к соединениям по существу в чистой изомерной форме при одном или более асимметрических центрах, например более чем около 90% ее, например около 95% или 97% или более чем 99% ее, а также к смесям, включая их рацемические смеси. Такие изомеры могут быть получены путем выделения из природных источников, путем асимметрического синтеза, например с использованием хиральных промежуточных соединений, или путем хирального разделения. Соединения по изобретению могут существовать в виде геометрических изомеров. Изобретение также относится к соединениям в по существу чистых цис (Z) или транс (E) формах, или их смесям.

Соединения по настоящему изобретению могут быть получены путем выделения из растения или части растения, или путем дериватизации выделенного соединения, или путем дериватизации родственного соединения. Методики выделения и методики дериватизации можно найти в WO 2007/070985 и WO 2014/169356.

Термин "соединение 6,7-эпокситиглиенона" относится к соединению, имеющему следующую углеводную циклическую структуру:



Эти соединения имеют трицикло[9.3.0]тетрадекановую систему с конденсированным циклопропановым кольцом, присоединенным к шестичленному кольцу. Эпоксид конденсирован с семичленным кольцом в 6,7-положении, а пятичленное кольцо имеет структуру 1,2-ен-3-он.

Используемый в настоящем документе термин "целевая опухоль" относится к опухоли, в которую непосредственно локализованным образом вводят соединение 6,7-эпокситиглиенона.

Используемый в настоящем документе термин "нецелевая опухоль" относится к опухоли, в которую соединение 6,7-эпокситиглиенона не вводят непосредственно локализованным образом.

Несмотря на то, что непосредственного локализованного введения в нецелевую опухоль не происходит, после введения непосредственно в целевую опухоль возникает регрессия нецелевой опухоли.

Используемый в настоящем документе термин "первичная опухоль" относится к первой опухоли, возникшей у субъекта.

Используемый в настоящем документе термин "метастатическая опухоль" или "вторичная опухоль" относится к опухоли, которая берет начало из первичной опухоли, но выросла в месте, отличном от места первичной опухоли. Метастатическая или вторичная опухоль может располагаться в том же органе или участке, что и первичная опухоль, или может располагаться в органе или участке, отличном от первичной опухоли. Метастатическая или вторичная опухоль содержит ту же линию опухолевых клеток, что и первичная опухоль.

Сателлитная опухоль относится к отдельной опухоли, расположенной в пределах 1 сантиметра от первичной опухоли. Сателлитная опухоль может представлять собой метастатическую опухоль или, в случае УФ-индуцированной кожной плоскоклеточной карциномы и кожной гемангиосаркомы, опухоль, которая дифференцировалась *de novo* из предракового поля солнечного кератоза.

Используемый в настоящем документе термин "эффект свидетеля" относится к гибели опухолевых клеток или регрессии опухолей, расположенных рядом с целевой опухолью, подвергаемой лечению. Опухолевые клетки, подверженные эффекту "свидетеля", хотя и не подвергаются непосредственному лечению, находятся рядом или в непосредственной близости от целевой опухоли, так что они вступают в контакт с клеточными сигналами, высвобождаемыми из клеток целевой опухоли, такими как активные формы кислорода, цитокины и лиганды смерти.

Используемый в настоящем документе термин "абскопальный эффект" относится к регрессии опухолей, которые не являются соседними к месту, в котором проводят локализованную терапию, или кото-

рые располагаются в отдаленном месте. Опухоли, подверженные абскопальному эффекту, считаются отдельными опухолями, которые не находятся в непосредственной близости (т.е. находятся на расстоянии более 2 см) от целевых опухолей, подвергаемых лечению, и данные эффекты опосредуются иммунным ответом.

Недавно для абскопальных эффектов, целевых опухолей и нецелевых опухолей была предложена новая терминология, поскольку они конкретно относятся к видам внутриопухолевой иммунотерапии (Marabelle et al., 2018). Эта терминология направлена на различение абскопальных эффектов, которые возникают вне поля облучения после радиотерапии, от эффектов, которые возникают в не подвергаемых лечению опухолях после внутриопухолевой доставки терапии в целевые опухоли. В рамках этих предложений предлагается заменить термин "абскопальный эффект" в случаях, связанных с внутриопухолевой терапией, "анестетическими иммунными ответами" и "анестетическими опухолевыми ответами" (Marabelle et al., 2018). Используемый в настоящем документе термин "абскопальный эффект" относится к анестетическим иммунным ответам и анестетическим опухолевым ответам. Эстетическое опухолевое поражение, которое подверглось внутриопухолевой инъекции, упоминается в настоящем документе как "целевая опухоль", и анестетическое опухолевое поражение, которое представляет собой неинъецированное опухолевое поражение, упоминается в настоящем документе как "нецелевая опухоль".

Используемый в настоящем документе термин "локализованное введение" относится к введению непосредственно в целевую опухоль. Например, локализованное введение может представлять собой местное введение или внутриопухолевое введение, когда терапевтический агент вводят непосредственно в опухоль.

Используемый в настоящем документе термин "регрессия опухоли" относится к частичному или полному исчезновению опухоли. В некоторых случаях может произойти полная регрессия опухоли, и опухоль исчезает. В других случаях может произойти частичная регрессия опухоли, и опухоль уменьшается в размерах, но не исчезает полностью.

Способ стимулирования регрессии опухоли

Настоящее изобретение относится к способу стимулирования регрессии по меньшей мере одной нецелевой опухоли у субъекта с несколькими опухолями, при этом указанный способ включает введение по меньшей мере в одну целевую опухоль соединения 6,7-эпокситиглиенона или его фармацевтически приемлемой соли; где по меньшей мере одна целевая опухоль и по меньшей мере одна нецелевая опухоль являются иммуногенными опухолями, и где введение представляет собой локализованное введение по меньшей мере в одну целевую опухоль.

В некоторых вариантах осуществления соединение 6,7-эпокситиглиенона или его фармацевтически приемлемую соль вводят в одну целевую опухоль. В некоторых вариантах осуществления соединение 6,7-эпокситиглиенона вводят в первичную опухоль. В некоторых вариантах осуществления соединение 6,7-эпокситиглиенона вводят во вторичную опухоль. В других вариантах осуществления соединения 6,7-эпокситиглиенона или его фармацевтически приемлемую соль вводят в более чем одну целевую опухоль, например 2-20 опухолей, включая 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 опухолей. Целевые опухоли могут быть локализованы в одном органе или в одном месте внутри или на поверхности тела субъекта, например, первичная опухоль и одна или более сателлитных опухолей или целевых опухолей могут быть локализованы в нескольких органах или в нескольких местах внутри или на поверхности тела субъекта. Например, более чем одна целевая опухоль может быть локализована в разных органах или в разных местах, например опухоль шеи и опухоль, локализованная на руке. Более чем одна целевая опухоль может представлять собой первичную опухоль и одну или более вторичных опухолей, или более чем одна целевая опухоль могут представлять собой более чем одну вторичную опухоль.

Соединение 6,7-эпокситиглиенона вводят локально по меньшей мере в одну целевую опухоль. В некоторых конкретных вариантах осуществления введение представляет собой внутриопухолевое введение. В других вариантах осуществления введение представляет собой местное введение. В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой кожную опухоль или подкожную опухоль, или опухоль, доступную снаружи тела, например опухоль, которую можно пальпировать. В других вариантах осуществления опухоль представляет собой внутреннюю опухоль. В некоторых вариантах осуществления, где опухоль представляет собой расположенную внутри опухоль, локализованная доставка может осуществляться во время хирургической операции, когда опухоль обнажена и в нее можно локально вводить соединение эпокситиглиенона. В других вариантах осуществления опухоль локализована внутри, и соединение эпокситиглиенона доставляют путем инъекции под контролем средств визуализации, например под контролем эндоскопического ультразвука или стереотаксической визуализации. В некоторых конкретных вариантах осуществления опухоль доступна снаружи тела.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна нецелевая опухоль представляет собой единичную опухоль. В некоторых вариантах осуществления имеется одна нецелевая опухоль. В других вариантах осуществления по меньшей мере одна нецелевая опухоль представляет собой более чем одну опухоль, например 2-20 опухолей, включая 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 опухолей. Нецелевые опухоли могут быть локализованы в одном органе или в одном месте внутри или на поверхности тела субъекта, например первичная опухоль и одна или более сателлитных опу-

холей или нецелевых опухолей могут быть локализованы во многих органах или во многих местах внутри или на поверхности тела субъекта. Например, более одной нецелевой опухоли может быть локализовано в разных органах или в разных местах, например опухоль шеи и опухоль, локализованная на руке. Более чем одна нецелевая опухоль может представлять собой первичную опухоль и одну или более вторичных опухолей или более чем одна нецелевая опухоль может представлять собой более чем одну вторичную опухоль. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна нецелевая опухоль представляет собой по меньшей мере одну опухоль-"свидетель". В некоторых конкретных вариантах осуществления нецелевая опухоль представляет собой по меньшей мере одну опухоль, удаленную от места целевой опухоли и подверженную абскопальному эффекту. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна нецелевая опухоль представляет собой по меньшей мере одну опухоль-"свидетель" и по меньшей мере одну опухоль, удаленную от места целевой опухоли, которая подвержена абскопальному эффекту.

По меньшей мере одна целевая опухоль и по меньшей мере одна нецелевая опухоль являются иммуногенными опухолями. Иммуногенные опухоли представляют собой опухоли, восприимчивые к опосредованно иммунной системой. Например, лечение целевой опухоли может включать индукцию воспалительного ответа, некроз опухолевых клеток, стимуляцию дендритных клеток и активацию цитотоксических Т-клеток, и нецелевая опухоль восприимчива к возникающим в результате иммунным ответам в организме. Иммуногенные опухоли характеризуются высокой мутационной нагрузкой опухоли (ТМВ). Высокая ТМВ является количественной мерой общего числа соматических несинонимичных мутаций в расчете на кодирующую область генома опухоли. ТМВ можно измерить в опухоли путем секвенирования всего генома (WGS) или нацеленного на гены секвенирования (Melendez et al., 2018). Предполагается, что опухолевые клетки с высоким уровнем ТМВ имеют больше неоантигенов, которые могут распознаваться борющимися с раком Т-клетками в микроокружении опухоли. Узнавание неоантигенов Т-клетками стимулирует противоопухолевый иммунный ответ.

Внутренняя иммуногенность раковых клеток зависит от их способности индуцировать специфический направленный на опухоль иммунный ответ. Такая иммуногенность обусловлена, в первую очередь, соматическими мутациями, которые заставляют раковые клетки экспрессировать опухолеспецифические мутантные белки (называемые неоантигенами), которые не экспрессируются в нормальных клетках. Было продемонстрировано, что частота таких мутаций и, следовательно, потенциальная неоантигенность опухолевых клеток заметно различается для разных типов рака (Schumacher & Streiber, 2015). ТМВ является широко признанным суррогатным показателем этой потенциальной неоантигенности (Gibney et al., 2016), при этом было показано, что средний-высокий уровень ТМВ предсказывает благоприятный исход для ряда типов опухолей у пациентов, получающих моноклональные антитела, которые ингибируют запрограммированную смерть 1 (PD-1) или соответствующий лиганд (Goodman et al., 2017; Yarchoan et al., 2017). Используя опубликованные данные о ТМВ, полученные из 100000 геномов человека (Chalmers et al., 2017), можно предсказать конкретные типы рака, которые будут иметь наибольшую вероятность генерирования системного абскопального эффекта в не получающих лечение опухолях после введения едininий эпокситиглиенона в одну или более целевых опухолей. Из 167 типов рака, перечисленных в Chalmers et al., было идентифицировано 36 типов рака со средним и высоким уровнями ТМВ (в соответствии с определением Goodman et al. 2017) на основе наличия (1) медианного числа мутаций на мегабазу более 5, или (2) присутствия более чем 10% случаев, имеющих более 20 мутаций на мегабазу. В некоторых вариантах осуществления иммуногенная опухоль представляет собой опухоль, имеющую уровень ТМВ от среднего до высокого, что определяют либо как медианное число мутаций на мегабазу более 5, либо как присутствие более 10% случаев, имеющих более 20 мутаций на мегабазу.

В некоторых вариантах осуществления иммуногенная опухоль выбрана из меланомы, базальноклеточной карциномы, плоскоклеточной карциномы, карциномы из клеток Меркеля, карциномы легких, карциномы мочевого пузыря, лимфомы, аденокарциномы молочной железы, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, медуллярной карциномы, колоректального рака, гистиоцитарной саркомы, гемангиосаркомы или мастоцитомы (опухоль тучных клеток). В некоторых вариантах осуществления иммуногенная опухоль выбрана из меланомы, включая первичную меланому и меланому головы и шеи, базальноклеточного рака кожи (BCC), плоскоклеточной карциномы кожи (SCC), плоскоклеточной карциномы головы и шеи, плоскоклеточной карциномы пищевода, плоскоклеточной карциномы легкого, плоскоклеточной карциномы заднего прохода, плоскоклеточной карциномы прямой кишки, плоскоклеточной карциномы шейки матки, плоскоклеточной карциномы вульвы, колоректального рака, карциномы из клеток Меркеля, крупноклеточной карциномы легкого, крупноклеточной нейроэндокринной карциномы легкого, мелкоклеточной недифференцированной карциномы легкого, немелкоклеточной карциномы легкого, саркоматоидной карциномы легкого, аденокарциномы легкого, аденосквамозной карциномы легкого, карциномы мочевого пузыря, уротелиальной переходо-клеточной карциномы мочевого пузыря (TCC), первичной уротелиальной карциномы, уротелиальной карциномы мочеточника, диффузной В-крупноклеточной лимфомы лимфатических узлов, В-клеточной лимфомы лимфатических узлов, фолликулярной лимфомы лимфатических узлов, первичной саркоматоидной карциномы, уротелиальной саркомы почки, аденокарциномы желудка кишечного типа, аденокарциномы эндометрия матки, ангио-

саркомы мягких тканей, карциномы придатков кожи, карциномы пищевода и аденокарциномы пищевода. В некоторых конкретных вариантах осуществления иммуногенная опухоль выбрана из базально-клеточной карциномы кожи (BCC), плоскоклеточной карциномы кожи (SCC), первичной плоскоклеточной карциномы, меланомы, первичной меланомы, меланомы головы и шеи, карциномы из клеток Меркеля, крупноклеточной карциномы легких, лимфомы лимфатических узлов, диффузной В-крупноклеточной лимфомы и ангиосаркомы мягких тканей, особенно базально-клеточной карциномы кожи (BCC), плоскоклеточной карциномы кожи (SCC), меланомы, диффузной В-крупноклеточной лимфомы лимфатических узлов и ангиосаркомы мягких тканей.

Субъект, который может быть подвергнут лечению с использованием комбинированной терапии, представляет собой млекопитающее, птицу, водное животное, такое как рыба или рептилия. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой человека, лабораторное животное, такое как примат, мышь, крыса или кролик, животное-компаньон, такое как собака или кошка, рабочее животное, такое как лошадь, осел и т.п., сельскохозяйственное животное, такое как корова, бык, свинья, овца, коза, олень, лама, альпака и тому подобное, или содержащееся в неволе дикое животное, такое как животные в зоопарках или парках дикой природы, включая львов, леопардов, гепарда, слона, зебру, антилопу, жирафа, коала, кенгуру и рептилии, такие как крокодилы, ящерицы, змеи и т.п., птицу, особенно содержащуюся в неволе птицу, такую как волнистый попугайчик или канарейка, какаду, маленький попугай, ара, попугай и т.п., или рыбу, особенно рыбу в неволе, такую как тропическая рыба (рыба-зебра, гуппи, сиамская бойцовая рыба, рыба-клоун, красный неон и т.п.), дельфины, киты и т.п. В некоторых конкретных вариантах осуществления субъектом является человек или животное-компаньон.

"Эффективное количество" означает количество, необходимое для по меньшей мере частичного достижения желаемого ответа, такого как регрессия опухоли. Это количество варьируется в зависимости от здоровья и физического состояния индивидуума, подлежащего лечению, таксономической группы индивидуума, подлежащего лечению, состава композиции, оценки медицинской ситуации и других соответствующих факторов. Предполагается, что эффективное количество соединения 6,7-эпокситиглиенона будет находиться в относительно широком диапазоне, который может быть определен с помощью обычных исследований. Эффективное количество в отношении пациента-человека, например, может находиться в диапазоне от около 0,1 нг на кг массы тела до 1 г на кг массы тела на дозировку. Дозировка предпочтительно находится в диапазоне от 1 мкг до 1 г на кг массы тела на дозировку, например, находится в диапазоне от 1 мг до 1 г на кг массы тела на дозировку. В одном варианте осуществления дозировка находится в диапазоне от 1 мг до 500 мг на кг массы тела на дозировку. В другом варианте осуществления доза находится в диапазоне от 1 мг до 250 мг на кг массы тела на дозу. В еще одном варианте осуществления дозировка находится в диапазоне от 1 мг до 100 мг на кг массы тела на дозировку, например, до 50 мг на кг массы тела на дозировку. В еще одном варианте осуществления дозировка находится в диапазоне от 1 мкг до 1 мг на кг массы тела на дозировку.

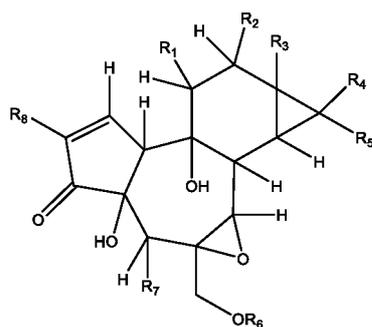
Соединение 6,7-эпокситиглиенона вводят локализованным способом в опухоль. Вводимая доза рассчитывается в зависимости от размера опухоли. Как правило, лекарственное средство вводят в количестве, составляющем от 5% до 50% объема раствора лекарственного средства 6,7-эпокситиглиенона : объем опухоли. Раствор соединения 6,7-эпокситиглиенона обычно имеет концентрацию от 0,2 до 5 мг/мл, например от 0,5 до 2 мг/мл или от 1 до 1,5 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления дозы соединения 6,7-эпокситиглиенона находятся в диапазоне от 0,005 мг до 5,0 мг соединения на кубический см объема опухоли, в частности от 0,01 мг до 2 мг соединения на кубический см объема опухоли, более предпочтительно от 0,1 мг до 0,75 мг соединения на кубический см объема опухоли.

Режимы дозирования могут быть скорректированы для обеспечения оптимального терапевтического ответа.

Доза соединения 6,7-эпокситиглиенона может представлять собой единичную дозу, вводимую в каждую целевую опухоль, в зависимости от размера опухоли. В некоторых вариантах осуществления доза может быть повторена один или несколько раз, если в целевой опухоли не был получен полный ответ на первоначальную дозу. В последующем соединении 6,7-эпокситиглиенона можно ввести локально в нецелевую опухоль, если не был получен полный ответ при введении начальной дозы в целевую опухоль.

Соединения 6,7-эпокситиглиенона

В некоторых вариантах осуществления соединения 6,7-эпокситиглиенона представляет собой соединение формулы (I)



... (I)

или его геометрический изомер, или стереоизомер, или фармацевтически приемлемую соль;
где

R_1 представляет собой водород или C_{1-6} -алкил;

R_2 представляет собой $-OR_9$;

R_3 представляет собой $-OR_9$;

R_4 и R_5 независимо выбраны из водорода и C_{1-6} -алкила;

R_6 представляет собой водород или $-R_{10}$;

R_7 представляет собой гидроксигруппу;

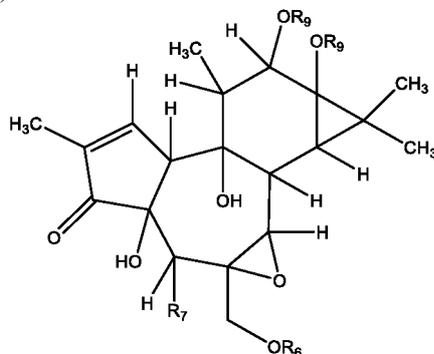
R_8 представляет собой водород или C_{1-6} -алкил;

R_9 представляет собой $-C_{1-20}$ -алкил, $-C_{2-20}$ -алкенил, $-C_{2-20}$ -алкинил, $-C(O)C_{1-20}$ -алкил, $-C(O)C_{2-20}$ -алкенил, $-C(O)C_{2-20}$ -алкинил, $-C(O)C_{3-6}$ -циклоалкил, $-C(O)C_{1-10}$ -алкил- C_{3-6} -циклоалкил; $-C(O)C_{2-10}$ -алкенил- C_{3-6} -циклоалкил, $-C(O)C_{2-10}$ -алкинил- C_{3-6} -циклоалкил, $-C(O)C_{1-10}$ -алкил- $C(O)R_{11}$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкенил- $C(O)R_{11}$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкинил- $C(O)R_{11}$, $-C(O)C_{1-10}$ -алкил- $CH(OR_{11})(OR_{11})$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкенил- $CH(OR_{11})(OR_{11})$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкинил- $CH(OR_{11})(OR_{11})$, $-C(O)C_{1-10}$ -алкил- SR_{11} , $-C(O)C_{2-10}$ -алкенил- SR_{11} , $-C(O)C_{2-10}$ -алкинил- SR_{11} , $-C(O)C_{1-10}$ -алкил- $C(O)OR_{11}$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкенил- $C(O)OR_{11}$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкинил- $C(O)OR_{11}$, $-C(O)C_{1-10}$ -алкил- $C(O)SR_{11}$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкенил- $C(O)SR_{11}$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкинил- $C(O)SR_{11}$;

R_{10} представляет собой $-C_{1-6}$ -алкил или $-C(O)C_{1-6}$ -алкил; и

R_{11} представляет собой водород, $-C_{1-10}$ -алкил, $-C_{2-10}$ -алкенил, $-C_{2-10}$ -алкинил, C_{3-6} -циклоалкил.

В некоторых вариантах осуществления соединение эпокситиглиенона формулы (I) представляет собой соединение формулы (II)



... (II)

или его геометрический изомер, или стереоизомер, или фармацевтически приемлемую соль;

где R_6 , R_7 и R_9 имеют значения, определенные для формулы (I).

В некоторых вариантах осуществления формул (I) и (II) алкильная или алкенильная группа R_2 и/или R_3 или R_9 представляет собой разветвленные алкильные или алкенильные группы.

В некоторых вариантах осуществления алкильная или алкенильная группа R_2 и/или R_3 или R_9 имеет длину цепи промежуточной гидрофобности, например C_4 , C_5 или C_6 .

В некоторых конкретных вариантах осуществления формул (I) или (II) выполняется одно или несколько из следующего:

R_1 представляет собой $-C_{1-3}$ -алкил, в частности, $-CH_3$;

R_2 представляет собой $-OC(O)C_{1-20}$ -алкил, $-OC(O)C_{2-20}$ -алкенил, $-OC(O)C_{2-20}$ -алкинил, $-OC(O)C_{3-6}$ -циклоалкил, $-OC(O)C_{1-10}$ -алкил- C_{3-6} -циклоалкил; $-OC(O)C_{2-10}$ -алкенил- C_{3-6} -циклоалкил, $-OC(O)C_{2-10}$ -алкинил- C_{3-6} -циклоалкил, $-OC(O)C_{1-10}$ -алкил- $C(O)R_{11}$, $-OC(O)C_{2-10}$ -алкенил- $C(O)R_{11}$, $-OC(O)C_{2-10}$ -алкинил- $C(O)R_{11}$, $-OC(O)C_{1-10}$ -алкил- $CH(OR_{11})(OR_{11})$, $-OC(O)C_{2-10}$ -алкенил- $CH(OR_{11})(OR_{11})$, $-OC(O)C_{2-10}$ -алкинил- $CH(OR_{11})(OR_{11})$, $-OC(O)C_{1-10}$ -алкил- SR_{11} , $-OC(O)C_{2-10}$ -алкенил- SR_{11} , $-OC(O)C_{2-10}$ -алкинил- SR_{11} , $-OC(O)C_{1-10}$ -алкил- $C(O)OR_{11}$, $-OC(O)C_{2-10}$ -алкенил- $C(O)OR_{11}$, $-OC(O)C_{2-10}$ -алкинил- $C(O)OR_{11}$, $-OC(O)C_{1-10}$ -алкил- $C(O)SR_{11}$, $-OC(O)C_{2-10}$ -алкенил- $C(O)SR_{11}$ или $-OC(O)C_{2-10}$ -алкинил- $C(O)SR_{11}$; в частности, $-OC(O)C_{1-10}$ -алкил, $-OC(O)C_{2-10}$ -алкенил, $-OC(O)C_{2-10}$ -алкинил, $-OC(O)C_{3-6}$ -циклоалкил, $-OC(O)C_{1-10}$ -алкил- C_{3-6} -циклоалкил; $-OC(O)C_{2-10}$ -алкенил- C_{3-6} -циклоалкил, $-OC(O)C_{2-10}$ -алкинил- C_{3-6} -циклоалкил; более конкретно $-OC(O)C_{1-6}$ -алкил, $-OC(O)C_{2-6}$ -алкенил или $-OC(O)C_{2-6}$ -алкинил или $-OC(O)C_{4-6}$ -алкил,

$-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{4-6}$ -алкенил или $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{4-6}$ -алкинил;

R_3 представляет собой $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{1-20}$ -алкил, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-20}$ -алкенил, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-20}$ -алкинил, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{3-6}$ -циклоалкил, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{1-10}$ -алкил C_{3-6} -циклоалкил; $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкенил C_{3-6} -циклоалкил, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкинил C_{3-6} -циклоалкил, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{1-10}$ -алкил- $\text{C}(\text{O})\text{R}_{11}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкенил- $\text{C}(\text{O})\text{R}_{11}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкинил- $\text{C}(\text{O})\text{R}_{11}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{1-10}$ -алкил- $\text{CH}(\text{OR}_{11})(\text{OR}_{11})$, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкенил- $\text{CH}(\text{OR}_{11})(\text{OR}_{11})$, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкинил- $\text{CH}(\text{OR}_{11})(\text{OR}_{11})$, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{1-10}$ -алкил- SR_{11} , $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкенил- SR_{11} , $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкинил- SR_{11} , $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{1-10}$ -алкил- $\text{C}(\text{O})\text{OR}_{11}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкенил- $\text{C}(\text{O})\text{OR}_{11}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкинил- $\text{C}(\text{O})\text{OR}_{11}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкил- $\text{C}(\text{O})\text{SR}_{11}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкенил- $\text{C}(\text{O})\text{SR}_{11}$ или $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкинил- $\text{C}(\text{O})\text{SR}_{11}$; в частности, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{1-10}$ -алкил, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкенил, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкинил, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{3-6}$ -циклоалкил, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{1-10}$ -алкил C_{3-6} -циклоалкил; $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкенил C_{3-6} -циклоалкил, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-10}$ -алкинил C_{3-6} -циклоалкил; более конкретно $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{1-6}$ -алкил, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-6}$ -алкенил или $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-6}$ -алкинил или $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{2-6}$ -алкинил или $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{4-6}$ -алкил, $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{4-6}$ -алкенил или $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_{4-6}$ -алкинил;

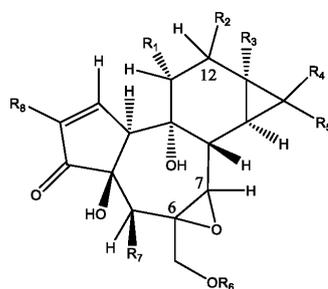
R_4 и R_5 независимо выбраны из $-\text{C}_{1-3}$ -алкила, в частности, $-\text{CH}_3$;

R_6 представляет собой водород или $-\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-3}$ -алкил; в частности, водород или $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$;

R_7 представляет собой гидроксильную группу; и

R_8 представляет собой $-\text{C}_{1-3}$ -алкил, в частности, $-\text{CH}_3$.

В некоторых вариантах осуществления соединения формул (I) и/или (II) имеют стереохимию, как показано в формуле (III) ниже:



... (III)

В некоторых вариантах осуществления эпоксид в положении 6,7 находится выше плоскости кольцевой системы. В других вариантах осуществления эпоксид в положении 6,7 находится ниже плоскости кольцевой системы. В некоторых вариантах осуществления группа R_2 в положении 12 представляет собой S, а в других вариантах осуществления группа R_2 в положении 12 представляет собой R.

- В некоторых конкретных вариантах осуществления соединения эпокситиглиенона выбрано из 12-тиглоил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 1); 12,13-ди-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 2); 12-гексаноил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 3); 12,13-дигексаноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 4); 12-миристоил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 5); 12-тиглоил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13-пентагидрокси-20-ацетилокси-1-тиглиен-3-он (соединение 6); 12-миристоил-13-ацетилокси-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 7); 12-пропаноил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 8); 12,13-дитиглоил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 9); 12-(2-метилбутаноил)-13-тиглоил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 10); 12-бутаноил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 11); 12-(3,3-диметилбут-2-еноил)-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 12); 12-гекс-2,4-диеноил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 13); 12-тиглоил-13-(2-метилпропаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 14); 12-бут-2-еноил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 15); 12-тиглоил-13-бутаноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 16); 12,13-дибутаноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 17); 12,13-дипентаноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 18);

12,13-ди-(2E,4E)-гекса-2,4-диеноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 19);

12,13-ди-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 20);

12-(2-метилпроп-2-еноил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиаен-3-он (соединение 21);

12-(3-бутеноил)-13-нонаноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиаен-3-он (соединение 22);

12,13-ди-ноноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиаен-3-он (соединение 23);

12,13-ди-гептаноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиаен-3-он (соединение 24);

12,13-ди-(3-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиаен-3-он (соединение 25);

или его фармацевтически приемлемой соли. В конкретных вариантах осуществления соединения 6,7-эпокситиглиенона выбрано из соединений 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 и 25, в частности, соединений 1, 2, 6, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 20 и 25.

Композиции

Хотя соединения 6,7-эпокситиглиенона или их фармацевтически приемлемые соли можно вводить в чистом виде, более удобно вводить их в виде фармацевтической композиции вместе с фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем и/или наполнителем.

Дозированную форму и пропорции для фармацевтического применения и композиций может легко определить специалист в данной области.

Соединение 6,7-эпокситиглиенона включается в состав для локализованного введения непосредственно на поверхность или внутрь опухоли, получающей лечение. В некоторых вариантах осуществления соединения 6,7-эпокситиглиенона включается в состав для местного применения в форме геля, мази, лосьона, крема или трансдермального пластыря, которые можно наносить непосредственно на опухоль, получающую лечение. В других вариантах осуществления соединения эпокситиглианона вводится в состав для инъекции, в частности для внутриопухолевой инъекции, когда соединение вводится в одно или несколько мест в опухоли.

Соответственно, фармацевтическая композиция(и) содержит(ат) фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество или приемлемое вспомогательное вещество. Под "фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом" подразумевается твердый или жидкий наполнитель, разбавитель или инкапсулирующее вещество, которое можно безопасно применять. В зависимости от конкретного способа введения, можно применять различные носители, хорошо известные в данной области. Эти носители или наполнители могут быть выбраны из группы, включающей сахара, крахмал, целлюлозу и ее производные, циклодекстрины, солод, желатин или другие гелеобразующие агенты, полимеры, тальк, сульфат кальция, растительные масла, синтетические масла, спирты и/или полиолы, альгиновую кислоту, фосфатно-буферные растворы, эмульгаторы, изотонический солевой раствор и апирогенную воду.

Препараты в жидкой форме включают растворы, суспензии и эмульсии, например водные или водно-пропиленгликолевые растворы. Например, жидкие препараты для инъекций могут быть составлены в виде растворов в водном 1,2-пропандиоле, диметилсульфоксиде (DMSO), водных растворах гамма-циклодекстрина или 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрина, физиологическом растворе или полиэтиленгликолевом растворе с буфером или без него. Предпочтительный диапазон pH составляет 3,0-4,5. Подходящие буферы буферизуют препарат при pH 3,5-4,5 и включают, без ограничения, ацетатный буфер и цитратный буфер.

Таким образом, композиции соединения 6,7-эпокситиглиенона могут быть составлены для парентерального введения (например, путем инъекции, например, болюсной инъекции) и могут быть представлены в форме стандартной дозы в ампулах, предварительно наполненных шприцах, инфузии малого объема или в контейнерах с несколькими дозами с добавлением консерванта. Композиции могут принимать такие формы, как суспензии, растворы, гели или эмульсии в масляных или водных носителях, и могут содержать агенты для составления, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие агенты. В альтернативном варианте активный ингредиент может быть в форме порошка, полученного выделением стерильного твердого вещества в асептических условиях или путем лиофилизации из раствора для смешивания перед применением с подходящим носителем, например стерильной апирогенной водой.

Фармацевтические композиции соединения 6,7-эпокситиглиенона, подходящие для введения, могут быть представлены в виде дискретных единиц, таких как шприцы, флаконы, пробирки или саше, каждая из которых содержит заранее определенное количество одного или нескольких фармацевтически активных соединений 6,7-эпокситиглиенона в виде порошка или гранул, или в виде раствора или суспензии в водном растворе, растворе циклодекстрина, в неводной жидкости, эмульсии масло-в-воде или эмульсии вода-в-масле, или в виде раствора или суспензии в виде крема или геля, или в виде суспензии микро- или наночастиц, содержащих соединения 6,7-эпокситиглиенона, включая, без ограничения, микро- или наночастицы диоксида кремния или полилактида. Такие композиции могут быть получены любым из фармацевтических способов, но все способы включают стадию объединения одного или нескольких фармацевтически активных соединений по изобретению с носителем, который представляет собой один или несколько необходимых ингредиентов. Как правило, композиции получают путем равномерного и тщательного смешивания агентов по изобретению с жидкими носителями или тонко измельченными твер-

дыми носителями, или с ними обоими, а затем, если необходимо, придания продукту желаемой формы.

Для местного введения в эпидермис или другой орган соединения по изобретению могут быть введены в состав в виде гелей, мазей, эмульсий, паст, кремов или лосьонов или в виде трансдермального пластыря. Гели могут быть изготовлены с применением подходящих загустителей и добавлением их в водные/спиртовые композиции соединения. В данной области известны подходящие загустители или гелеобразующие агенты, такие как поливинилкарбоксо полимер Carbomer 940. Мази и кремы, например, могут быть составлены на водной или масляной основе с добавлением подходящих загустителей и/или гелеобразующих агентов. Лосьоны могут быть составлены на водной или масляной основе и обычно также содержат один или несколько эмульгирующих агентов, стабилизирующих агентов, диспергирующих агентов, суспендирующих агентов, загустителей или красителей.

Составы, подходящие для местного применения, также включают растворы или суспензии, которые можно вводить местно в форме ванны, смачивающего раствора или аэрозоля, или их можно впитывать в повязку.

Примеры

Пример 1. Абскопальные (анестетические) эффекты соединения 1 у двух пациентов-людей с меланомой.

Было проведено открытое многоцентровое исследование фазы I с увеличением дозы внутриопухолевого соединения 1 у пациентов с доступными кожными, подкожными или узловыми опухолями, резистентными к традиционной терапии (Panizza et al., 2019). Пациенты получали соединение 1 посредством прямой болюсной инъекции(й) не более чем в 3 выбранные поверхностные опухоли в 1-й день. Объем раствора определяли по площади поверхности тела (BSA), используя формулу: Объем = (BSA x уровень дозы) / концентрация лекарственного средства, где объем выражен в мл, BSA - в м², уровень дозы - в мг/м², и концентрация лекарственного средства - в мг/мл. Раствор инъецировали в объем опухоли, который, по оценкам, был в два раза больше объема введенного раствора (например, 1 мл соединения 1 на 2 см³ опухоли). Если опухоли имели больший размер, чем размер, требуемый для дозы, инъецировали часть опухоли. Когда проводили лечение нескольких опухолей, дозу делили пропорционально объему каждой целевой опухоли. Дозу вводили с использованием минимального количества инъекций верным методом для равномерного распределения дозы по всей опухоли. Оценки в период последующего наблюдения проводили на 3, 5, 8, 15 и 22 день и, если заживления или стабилизации не произошло к 22 дню, то затем каждые 7 дней до достижения полного заживления или стабилизации.

Из пациентов, включенных в это исследование, у двоих имелась метастатическая меланома, при этом у обоих пациентов наблюдался абскопальный эффект после внутриопухолевого лечения соединением 1 в качестве монотерапии.

Первоначально у пациента 1 была диагностирована меланома в августе 2011 года, и локальная опухоль была удалена хирургическим путем. При последующей операции в ноябре 2015 г. была удалена метастатическая опухоль в левой подмышечной впадине. Пациенту не проводилась радиотерапия, химиотерапия или другие вмешательства во время лечения этого заболевания. В январе 2016 года у пациента развилась более обширная метастатическая меланома в подмышечных лимфоузлах, при этом тонкоигольная аспирация (FNA) подтвердила более распространенное заболевание с массой контралатеральной околоушной узловой меланомы и клинически подозрительной опухолью ноги. В это время соединение 1 вводили в две новые опухоли в левой подмышечной впадине. Был получен полный ответ (с использованием критериев RECIST v1.1; Eisenhauer et al. 2009) с исчезновением обеих опухолей, в которые вводили препарат. Примечательно, что не подвергавшееся лечению образование околоушной железы и образование на ноге также исчезли после лечения соединением 1, и этот пациент оставался свободным от заболевания в течение 33 месяцев после лечения, но впоследствии у него развилось широко распространенное метастатическое заболевание, хотя подмышечные и околоушные узлы оставались чистыми. Подробные сведения об этом пациенте и лечении приведены в табл. 1.

Таблица 1

Пациент 1

Тип рака и стадия заболевания	Локализации и число под-вергнутых лечению опухолей	Объем под-вергнутых лечению опухолей	Ответ подвергну-тых лечению опухолям ¹	Локализация исцеленных опухолей	Ответ в исцеленной опухоли ¹	Статус без признаков заболевания
Мелано-ма Стадия III	Подмышечная впадина (2)	1 см ³	Полный ответ	Контралатеральный узел околоушной железы Колено	Полный Полный	Пациент оставался клинически и радиологически чистым от заболевания че-рез 33 месяца, но затем развил прогрессирующее заболевание

Категория ответа, основанная на критериях RECIST v1.1, Eisenhauer et al. 2009 Во время лечения соединением 1 у пациента 2 была меланома (степень IV) с кожными, узловыми и плевральными метастазами. Этому пациенту был первоначально поставлен диагноз меланома в феврале 2015 года, и в период с

февраля 2015 года по март 2016 года у него трижды проводились операции по удалению опухолей. В июне 2016 года был проведен курс радиотерапии по поводу метастазов в грудной стенке, что привело к частичному локальному ответу на радиотерапию. Вскоре развилось прогрессирующее заболевание, которое не отвечало на лечение, несмотря на четыре дозы пембролизумаба. После двухмесячного периода "вымывания" после этих предыдущих терапий у пациента имелось три метастаза кожной меланомы на правой верхней конечности, подвергнутой лечению путем внутриопухолевого введения соединения 1. Был получен полный ответ (RECIST v1.1), при этом все три опухоли, в которые вводили лекарственное средство, полностью рассосались. Примечательно, что четвертая кожная опухоль, в которую не вводили исследуемое лекарственное средство, продемонстрировала абскопальный (аненестический) ответ и полностью рассосалась макроскопически во время периода последующего наблюдения. Приблизительно через 4 недели после инъекции соединения 1 в опухоли верхних конечностей, инъецировали поверхностную опухоль грудины (содержащую подтвержденную биопсией метастатическую меланому), которая также показала полный ответ. Следует отметить, что компьютерная томография показала абскопальные (аненестические) ответы в неинъецированных опухолях лимфатических узлов и плевры с полным разрешением 24-мм левого подмышечного узла и 29-мм правого плеврального узла, а также уменьшением размера правого пахового узла. Пациент оставался здоровым и не проходил лечение до тех пор, пока компьютерная томография, выполненная через 14 месяцев после второй инъекции соединения 1, не показала прогрессирующую опухоль с поражением костей и лимфатических узлов. Подробная информация об этом пациенте представлена в табл. 2.

Таблица 2

Пациент 2

Тип рака и стадия заболевания	Локализации и число подвергнутых лечению опухолей	Объем подвергнутых лечению опухолей	Ответ в подвергнутой лечению опухоли ¹	Локализация нецелевых опухолей	Ответ в нецелевой опухоли ¹	Статус без признаков заболевания
Меланома Стадия IV (BRAF дикого типа)	Рука (3)	1,3 см ³	Полный ответ	Контралатеральный узел околоушной железы	Полный	Прогессирующее заболевание выявлено по СТ сканированию через 14 месяцев с вовлечением кости и лимфатических узлов
	Грудина (1)	1,1 см ³	Полный ответ	Рука (сателлитные метастазы)	Полный	
				Левый подмышечный лимфатический узел (24 мм)	Полный	
				Правый плевральный узел (29 мм)	Полный	
				Правый паховый лимфатический узел	Частичный	

¹Категория ответа, основанная на критериях RECIST v1.1, Eisenhauer et al. 2009

Пример 2. Абскопальные эффекты соединения 1 в пяти типах рака у собак.

а) Спонтанно возникающие раковые заболевания у собак признаны надежной моделью для многих видов рака у людей.

Естественным образом возникающие раковые заболевания у собак имеют поразительное биологическое сходство с раковыми заболеваниями у людей, и в последнее время появилось значительное количество научной литературы, демонстрирующей ценность раковых заболеваний у собак в качестве "реалистичных" моделей болезней человека, а также для прогнозирования реакции на новые методы лечения рака (Gardner et al. 2016). Например, важные клинически значимые признаки раковых заболеваний, общие для собак и человека, включают следующие:

часто представляют собой относительно большие опухоли, которые развиваются спонтанно у крупных беспородных млекопитающих с фоном генетического разнообразия, аналогичным таковому в человеческой популяции;

являются генетически сложными опухолями, которые развиваются в течение длительных периодов времени и существуют в присутствии неповрежденной иммунной системы, где существуют сложные взаимодействия между иммунной системой хозяина и раковыми клетками, которые определяют развитие и прогрессирование опухоли;

имеют сходные молекулярные и анатомические особенности;

имеют значительную неоднородность опухолей как у пациентов, так и между пациентами;

рецидивирует и метастазирует в те же места, что и опухоли аналогичного типа у людей; и

развивают резистентность при повторных курсах лечения.

Примеры рака у собак, для которых опубликована научная литература, демонстрирующая их прямое отношение к моделям заболеваний человека, включают меланомы, плоскоклеточный рак, рак груди, лимфомы, саркомы мягких тканей, инвазивный рак мочевого пузыря, глиомы и остеосаркомы.

б) Наблюдения абскопального эффекта в пяти типах рака в клинических исследованиях на собаках после местного введения эпокситиглиенона.

Прототип соединения 1 эпокситиглиенона в настоящее время находится на последней стадии клинической разработки в качестве местного средства для лечения мастоцитомы у собак (Miller et al., 2019). Параллельно этому эффективность соединения также оценивали в сериях исследований конкретных случаев по широкому спектру типов кожного и подкожного рака у собак. Большинство этих клинических

случаев связано с лечением несистемного заболевания, при котором у каждого пациента присутствует только одна опухоль. Однако в ряде случаев пациенты имели системное мультифокальное заболевание, и в этих случаях соединение вводили в подмножество имеющихся опухолей только с целью местного паллиативного воздействия. Абскопальные эффекты в несмежных, не подвергаемых лечению опухолях в последствии наблюдались у восьми пациентов с мультифокальным заболеванием из этих случаев. Пять типов опухолей, для которых наблюдались абскопальные эффекты, представляли собой мастоцитому (тучноклеточные опухоли), гистиоцитическую саркому (новообразование гемопоэтического происхождения), плоскоклеточную карциному кожи (возникающую из солнечных кератозов), базальноклеточную карциному, смешанные области плоскоклеточного рака кожи и гемангиосаркомы (возникающей из солнечных кератозов), и гемангиосаркому (табл. 3).

Последовательный протокол лечения использовали во всех исследованиях конкретных случаев вводимых местно эпокситиглиенонов в соответствии со следующим далее описанием. Все собаки принадлежали клиенту, и от владельцев перед включением пациентов в исследование и их лечением было получено информированное согласие. Биопсии брали за 7-14 дней до лечения для определения типа опухоли, за исключением мастоцитом, где подтверждение типа опухоли основывалось на цитологии, полученной из тонкоигольных аспиратов опухолевой массы. На момент лечения измеряли целевую опухоль(и), в которую должно было быть введено лекарственное средство. Затем рассчитывали дозу, подлежащую внутриопухолевому введению в каждую опухоль, исходя из объема опухоли, на уровне от 0,1 мг до 0,5 мг 6,7-эпокситиглиенона на кубический сантиметр объема опухоли. В случаях мультифокального заболевания, когда на единичную опухоль или небольшое количество имеющихся опухолей направленно воздействовали только в паллиативных целях, по возможности подсчитывали другие видимые и пальпируемые опухоли у пациента. Лечение целевых опухолей включало однократную инъекцию эпокситиглиенона в каждую опухоль. Снимки целевых опухолей делали непосредственно до лечения и в ходе их реакции на лечение. Целевые опухоли регулярно оценивали в течение 28 дней, и окончательный результат лечения классифицировался как полный ответ (полное разрешение целевой опухоли), частичный ответ (некоторая опухолевая ткань все еще присутствовала через 28 дней) или плохой ответ (значительная масса опухоли все еще сохранялась на текущий момент). Ветеринары отметили, что ответная реакция нецелевых опухолей, которая имела абскопальный эффект, характеризовалась уменьшением и исчезновением этих опухолей, иногда с временным легким потемнением кожи. Это отличалось от очень характерного геморрагического некроза и шелушения опухоли, характерного для эпокситиглиенонов при их введении непосредственно в целевые опухоли.

Таблица 3

ID пациента	Тип рака	История лечения	Локализация (число) подвергнутых лечению опухолей	Ответ в подвергнутой лечению опухоли	Локализация (число) не подвергнутых лечению опухолей	Ответ в не подвергнутой лечению опухоли	Время до абскопального ответа (дни)	Повторное возникновение абскопальных опухолей / статус отсутствия признаков заболевания
C-JN	Гистиоцитическая саркома	Нет	Левое плечо (2)	Полный	Левое плечо (6 сателлитных опухолей)	Полный	7 - 14 дней	Нет повторного возникновения через 6 месяцев (пациент усыплен из-за несвязанного осложнения)
			Середина правой задней ноги (2)	Полный				
			Подмышечная впадина правой задней ноги (2)	Полный				
			Задняя часть шеи (7)	Полный				
			Правая боковая поверхность (5)	Полный				
C-IS	Кожная плоскоклеточная карцинома	Хирургическая операция	Абдоминальная (7)	Полный	Абдоминальная (>20 сателлитных опухолей)	Полный	7 - 14 дней	Нет повторного возникновения через 4 месяца
C-LW	Смешанные поля кожной плоскоклеточной карциномы / гемангиосаркома (возникает из солнечных кератозов)	Множество хирургических операций	Абдоминальная (6), 3 дискретных поля лечения	Полный	Абдоминальная (>15 сателлитных опухолей)	Полный	7 - 14 дней	Нет повторного возникновения в обработанных областях. Новые опухоли развились из новых областей дифференцированных солнечных кератозов через 3 месяца
C-MC	Гемангиосаркома	Нет	Внутренняя сторона правого бедра (1)	Полный	Правый паховый лимфатический узел (1)	Полный	14 дней	Нет повторного возникновения через 36 месяцев
C-RC	Базальноклеточная карцинома	Хирургическая операция (за 6 месяцев)	Левое переднее коленное сухожилие (1)	Полный	Переднее левое плечо	Полный	7 - 14 дней	Нет повторного возникновения через 20 месяцев
			Правое заднее коленное сухожилие (1)	Полный	Правое заднее бедро	Полный	7 - 14 дней	

CM-02	Мастоцитома	Нет	Левое бедро, каудальная часть (1)	Полный	Краниальная часть бедра (правая задняя нога)	Полный	21 - 28 дней	Нет повторного возникновения через 3 месяца
CD-01	Мастоцитома	Нет	Возле вульвы	Полный	Медialная сторона проксимального отдела левой передней ноги	Полный	7 дней	Нет повторного возникновения через 3 месяца
					Каудолатеральная сторона бедра на правой задней ноге	Полный	14 дней	Нет повторного возникновения через 3 месяца
CD-02	Мастоцитома	Нет	Правая поверхность черепа	Полный	Левая поверхность черепа	Полный	7 дней	Нет повторного возникновения через 3 месяца

Пример 3. Абскопальный эффект соединения 1 в моделях иммунокомпетентного рака у мышей.

В исследовании *in vivo* с использованием субоптимальных доз соединения 1 изучали абскопальные эффекты у иммунокомпетентных мышей C57BL/6. Штамм мышей C57BL/6 был выбран, поскольку его широко применяют при исследовании способности новых агентов вызывать абскопальные эффекты, особенно связанные с уменьшением не подвергаемых лечению опухолей, которое происходит одновременно с уменьшением подвергнутых лечению целевых опухолей или вскоре после этого.

Опухоли B16-F10 (меланома) или Panc02 (поджелудочная железа) (2 на мышь, 5 мышей на лечебную группу) выращивали подкожно на иммунокомпетентных мышцах (C57BL/6) до размера 75-100 мм³, после чего в одну опухоль инъецировали либо один носитель (50 мкл, 40% пропиленгликоля (PG), 30 мМ ацетата натрия, pH 4,3), либо носитель, содержащий 7,5 мкг соединения 1, чтобы определить, может ли введение соединения 1 способствовать развитию абскопальных эффектов в различных подтипах рака. Линии раковых клеток мышей перед инъекцией трансдуцировали лентивирусом, экспрессирующим люциферазу, для визуализации как первичной опухолевой нагрузки, так и возможных метастазов с использованием биоллюминесцентной визуализации. За всеми мышами наблюдали согласно методикам, утвержденными Комитетом по этике животных Медицинского научно-исследовательского института Бергхофера для этого исследования.

Результаты показаны на фиг. 1 (B16-F10) и 2 (Panc02). Результаты показали, что обработка одной опухоли только лишь носителем не оказывала значительного эффекта на рост не подвергнутой лечению опухоли. Напротив, лечение субэффективной (7,5 мкг) дозой соединения 1 привело к уменьшению роста опухоли в подвергнутой лечению опухоли. Кроме того, не подвергнутые лечению соседние опухоли также продемонстрировали ответ на терапию соединением 1, который не наблюдался при введении одного только носителя.

Ссылки на литературу.

Abuodeh Y, Venkat P & Kim S (2016). Systematic review of case reports on the abscopal effect. *Current Problems in Cancer* 40: 25-37.

Adams JL, Smothers J, Srinivasan R & Hoos A (2015). Big opportunities for small molecules in immuno-oncology. *Nature Reviews Drug Discovery* 14: 603-622.

Aznar MA, Tinari N, Rullan AJ *et al.* (2016). Intratumoral delivery of immunotherapy – act locally, think globally. *Journal of Immunology* 198: 32-39.

Barnett CME, Broit N, Yap PY *et al.* (2019). Optimising intratumoral treatment of head and neck squamous cell carcinoma models with the diterpene ester Tigilanol tiglate. *Investigational New Drugs* 37: 1-8.

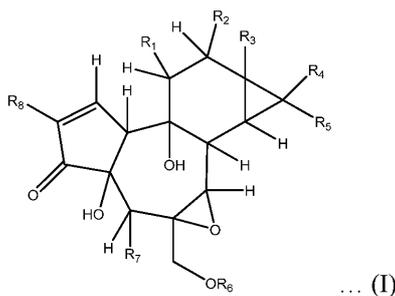
Boutros C, Tarhini A, Routier O *et al.* (2016). Safety profiles of anti-CTLA-4 and anti-

- PD-1 antibodies. *Nature Reviews Clinical Oncology* 13: 473-486
- Boyle GM, D'Souza MM, Pierce CJ *et al.* (2014). Intra-lesional injection of the novel PKC activator EBC-46 rapidly ablates tumors in mouse models. *PLoS One* 9(10): e108887.
- Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D *et al.* (2017). Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden. *Genome Medicine* 9(1): 34
- Demaria S, Ng B, Devitt ML *et al.* (2004). Ionizing radiation inhibition of distant untreated tumors (abscopal effect) is immune mediated. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 58: 862-870.
- Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J *et al.* (2009). New response criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *European Journal of Cancer* 45: 228-247.
- Gardner *et al.* 2016. Dogs as a model for cancer. *Annual Review of Animal Biosciences* 4: 199-222.
- Gibney GT, Weiner LM & Atkins MB (2016). Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy. *Lancet Oncology* 16: e542-551.
- Goodman AM, Kato S, Bazhenova L *et al.* (2017). Tumor mutational burden as an independent predictor of response to immunotherapy in diverse cancers. *Molecular Cancer Therapeutics* 16: 2598-2608
- Hammerich L, Binder A & Brody JD (2015). In situ vaccination: cancer immunotherapy both personalized and off the shelf. *Molecular Oncology* 9: 1966-1981.
- Marabelle A, Tselikas L, de Baere T & Houot R (2017). Intratumoral immunotherapy: using the tumor as the remedy. *Annals of Oncology* 28: xii33-xi43.
- Marabelle A, Andtbacka R, Harrington K, *et al.* (2018). Starting the fight in the tumor: expert recommendations for the development of human intratumoral immunotherapy (HIT-IT). *Annals of Oncology* 29: 2163-2174.
- Mastrangelo MJ, Bellet RE, Berkelhammer J *et al.* (1975). Regression of pulmonary metastatic disease associated with intralesional BCG therapy of intracutaneous melanoma metastases. *Cancer* 36: 1305-1308.
- Marin-Acevedo JA, Dholaria B, Soyano AE *et al.* (2018). Next generation of immune checkpoint therapy in cancer: new developments and challenges. *Journal of Hematology & Oncology* 11: 39.
- Meléndez B, *et al.*, (2018). Methods of measurement for tumor mutational burden in tumor tissue. *Translational Lung Cancer Research* 7(6):661-667.
- Miller J, Campbell J, Blum A *et al.* (2019). Dose characterization of the investigational anticancer drug tigilanol tiglate (EBC-46) in the local treatment of canine mast cell tumors. *Frontiers in Veterinary Science* 2019.00106.
- Panizza BJ, de Souza P, Cooper A, Roohullah A, Karapetis CS и Lickliter JD, (2019). Phase I dose-escalation study to determine the safety, tolerability, preliminary efficacy and pharmacokinetics of an intratumoral injection of tigilanol tiglate (EBC-46). *EBioMedicine* 50:433-441.
- Prise KM и O'Sullivan JM (2009). Radiation induced bystander signalling in cancer therapy. *Nature Reviews Cancer* 9: 351-30.
- Schumacher TN и Schreiber RD (2015). Neoantigens in cancer therapy. *Science* 348: 69-73.
- Yarchoan M, Hopkins A и Jaffee EM (2017). Tumor mutational burden and response rate to PD-1 inhibition. *New England Journal of Medicine* 377: 2500-2501.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ стимулирования регрессии по меньшей мере одной нецелевой опухоли у субъекта с несколькими опухолями, при этом указанный способ включает введение по меньшей мере в одну целевую опухоль соединения 6,7-эпокситиглиенона или его фармацевтически приемлемой соли в виде монотерапии; где по меньшей мере одна целевая опухоль и по меньшей мере одна нецелевая опухоль являются иммуногенными опухолями, и где введение представляет собой локализованное введение по меньшей мере в одну целевую опухоль;

где соединение 6,7-эпокситиглиенона представляет собой соединение формулы (I)



или его геометрический изомер, или стереоизомер, или фармацевтически приемлемую соль;

где

R_1 представляет собой водород или C_{1-6} -алкил;

R_2 представляет собой $-OR_9$;

R_3 представляет собой $-OR_9$;

R_4 и R_5 независимо выбраны из водорода и C_{1-6} -алкила;

R_6 представляет собой водород или $-R_{10}$;

R_7 представляет собой гидроксигруппу;

R_8 представляет собой водород или C_{1-6} -алкил;

R_9 представляет собой $-C_{1-20}$ -алкил, $-C_{2-20}$ -алкенил, $-C_{2-20}$ -алкинил, $-C(O)C_{1-20}$ -алкил, $-C(O)C_{2-20}$ -алкенил, $-C(O)C_{2-20}$ -алкинил, $-C(O)C_{3-6}$ -циклоалкил, $-C(O)C_{1-10}$ -алкил- C_{3-6} -циклоалкил; $-C(O)C_{2-10}$ -алкенил- C_{3-6} -циклоалкил, $-C(O)C_{2-10}$ -алкинил- C_{3-6} -циклоалкил, $-C(O)C_{1-10}$ -алкил- $C(O)R_{11}$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкенил- $C(O)R_{11}$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкинил- $C(O)R_{11}$, $-C(O)C_{1-10}$ -алкил- $CH(OR_{11})(OR_{11})$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкенил- $CH(OR_{11})(OR_{11})$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкинил- $CH(OR_{11})(OR_{11})$, $-C(O)C_{1-10}$ -алкил- SR_{11} , $-C(O)C_{2-10}$ -алкенил- SR_{11} , $-C(O)C_{2-10}$ -алкинил- SR_{11} , $-C(O)C_{1-10}$ -алкил- $C(O)OR_{11}$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкенил- $C(O)OR_{11}$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкинил- $C(O)OR_{11}$, $-C(O)C_{1-10}$ -алкил- $C(O)SR_{11}$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкенил- $C(O)SR_{11}$, $-C(O)C_{2-10}$ -алкинил- $C(O)SR_{11}$;

R_{10} представляет собой $-C_{1-6}$ -алкил или $-C(O)C_{1-6}$ -алкил; и

R_{11} представляет собой водород, $-C_{1-10}$ -алкил, $-C_{2-10}$ -алкенил, $-C_{2-10}$ -алкинил, C_{3-6} -циклоалкил;

где нецелевая опухоль представляет собой опухоль, в которую соединение 6,7-эпокситиглиена не вводят непосредственно локализованным образом; и

где иммуногенные опухоли представляют собой опухоли, восприимчивые к опосредованию иммунной системой.

2. Способ по п.1, в котором соединение 6,7-эпокситиглиена или его фармацевтически приемлемую соль вводят в одну целевую опухоль.

3. Способ по п.1, в котором соединение 6,7-эпокситиглиена или его фармацевтически приемлемую соль вводят более чем в одну целевую опухоль.

4. Способ по п.1, в котором по меньшей мере одна целевая опухоль включает первичную опухоль, вторичную опухоль или первичную опухоль и одну или несколько вторичных опухолей.

5. Способ по п.1, в котором целевая опухоль представляет собой вторичную опухоль.

6. Способ по п.1, в котором по меньшей мере одна нецелевая опухоль представляет собой единственную опухоль.

7. Способ по п.1, в котором по меньшей мере одна нецелевая опухоль представляет собой более чем одну опухоль.

8. Способ по п.1, в котором по меньшей мере одна нецелевая опухоль представляет собой по меньшей мере одну опухоль-"свидетель", по меньшей мере одну опухоль, подверженную абскопальному эффекту, или по меньшей мере одну опухоль-"свидетель" и по меньшей мере одну опухоль, подверженную абскопальному эффекту.

9. Способ по п.8, в котором по меньшей мере одна нецелевая опухоль подвержена абскопальному эффекту.

10. Способ по п.1, в котором локализованное введение представляет собой местное введение или внутриопухолевое введение.

11. Способ по п.10, в котором локализованное введение представляет собой внутриопухолевое введение.

12. Способ по п.1, в котором иммуногенная опухоль выбрана из меланомы, базальноклеточной карциномы, плоскоклеточной карциномы, карциномы из клеток Меркеля, карциномы легкого, карциномы мочевого пузыря, лимфомы, аденокарциномы молочной железы, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, медуллярной карциномы, колоректального рака, гистиоцитарной саркомы, гемангиосаркомы или мастоцитомы.

13. Способ по п.1, в котором применяют одно или несколько из следующего:

i) R_1 представляет собой $-C_{1-3}$ -алкил;

ii) R_2 и R_3 независимо выбраны из $-OC(O)C_{1-20}$ -алкила, $-OC(O)C_{2-20}$ -алкенила, $-OC(O)C_{2-20}$ -алкинила, $-OC(O)C_{3-6}$ -циклоалкила, $-OC(O)C_{1-10}$ -алкил- C_{3-6} -циклоалкила; $-OC(O)C_{2-10}$ -алкенил- C_{3-6} -циклоалкила,

-OC(O)C₂₋₁₀-алкинилC₃₋₆циклоалкила, -OC(O)C₁₋₁₀-алкил-C(O)R₁₁, -OC(O)C₂₋₁₀-алкенил-C(O)R₁₁, -OC(O)C₂₋₁₀-алкинил-C(O)R₁₁, -OC(O)C₁₋₁₀-алкил-CH(OR₁₁)(OR₁₁), -OC(O)C₂₋₁₀-алкенил-CH(OR₁₁)(OR₁₁), -OC(O)C₂₋₁₀-алкинил-CH(OR₁₁)(OR₁₁), -OC(O)C₁₋₁₀-алкил-SR₁₁, -OC(O)C₂₋₁₀-алкенил-SR₁₁, -OC(O)C₂₋₁₀-алкинил-SR₁₁, -OC(O)C₁₋₁₀-алкил-C(O)OR₁₁, -OC(O)C₂₋₁₀-алкенил-C(O)OR₁₁, -OC(O)C₂₋₁₀-алкинил-C(O)OR₁₁, -OC(O)C₁₋₁₀-алкил-C(O)SR₁₁, -OC(O)C₂₋₁₀-алкенил-C(O)SR₁₁ или -OC(O)C₂₋₁₀-алкил-C(O)SR₁₁; в частности, -OC(O)C₁₋₁₀-алкила, -OC(O)C₂₋₁₀-алкенила, -OC(O)C₂₋₁₀-алкинила, -OC(O)C₃₋₆циклоалкила, -OC(O)C₁₋₁₀-алкилC₃₋₆циклоалкила; -OC(O)C₂₋₁₀-алкенилC₃₋₆циклоалкила или -OC(O)C₂₋₁₀-алкинилC₃₋₆циклоалкила;

iii) R₄ и R₅ независимо выбраны из -C₁₋₃-алкила;

iv) R₆ представляет собой водород или -C(O)C₁₋₆-алкил; и

v) R₈ представляет собой -C₁₋₃-алкил.

14. Способ по п.13, в котором применяют одно или несколько из следующего:

i) R₁ представляет собой -CH₃;

ii) R₂ и R₃ независимо выбраны из -OC(O)C₁₋₆-алкила, -OC(O)C₂₋₆-алкенила или -OC(O)C₂₋₆-алкинила;

iii) каждый из R₄ и R₅ представляет собой -CH₃;

iv) R₆ представляет собой водород или -C(O)C₁₋₃-алкил; и

v) R₈ представляет собой -CH₃.

15. Способ по п.1, в котором соединение 6,7-эпокситиглиенона выбрано из следующего:

12-тиглоил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 1);

12,13-ди-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 2);

12-гексаноил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 3);

12,13-дигексаноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 4);

12-миристоил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 5);

12-тиглоил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13-пентагидрокси-20-ацетилокси-1-тиглиен-3-он (соединение 6);

12-миристоил-13-ацетилокси-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 7);

12-пропаноил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 8);

12,13-дитиглоил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 9);

12-(2-метилбутаноил)-13-тиглоил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 10);

12-бутаноил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 11);

12-(3,3-диметилбут-2-еноил)-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 12);

12-гекс-2,4-диеноил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 13);

12-тиглоил-13-(2-метилпропаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 14);

12-бут-2-еноил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 15);

12-тиглоил-13-бутаноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 16);

12,13-дибутаноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 17);

12,13-дипентаноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 18);

12,13-ди-(2E,4E)-гекса-2,4-диеноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 19);

12,13-ди-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 20);

12-(2-метилпроп-2-еноил)-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 21);

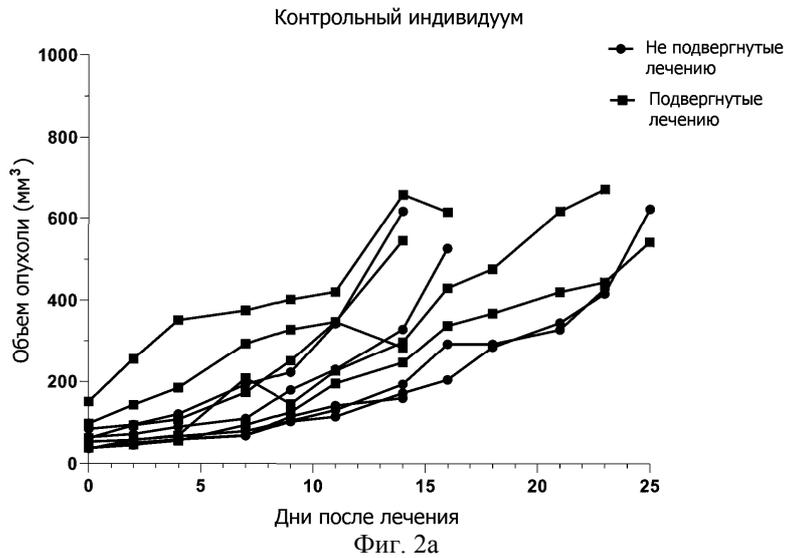
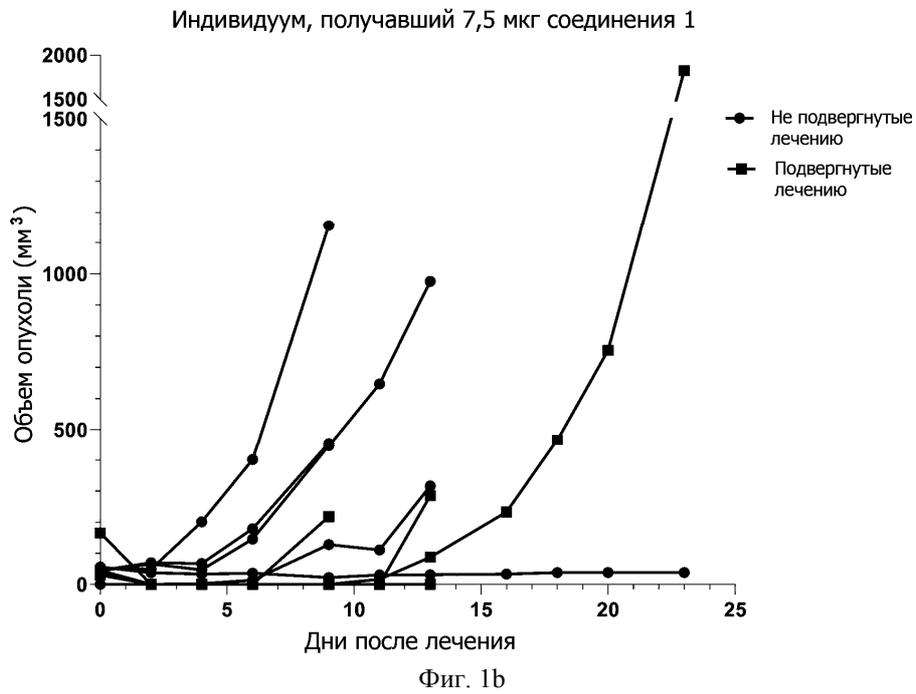
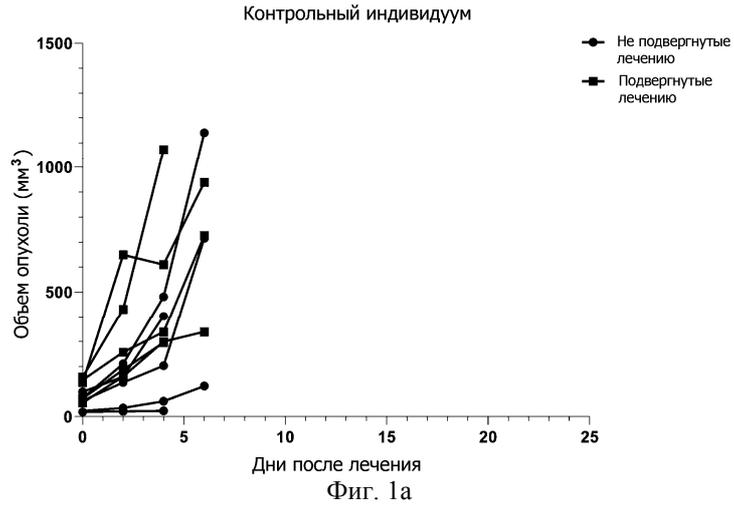
12-(3-бутеноил)-13-нонаноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 22);

12,13-ди-ноноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 23);

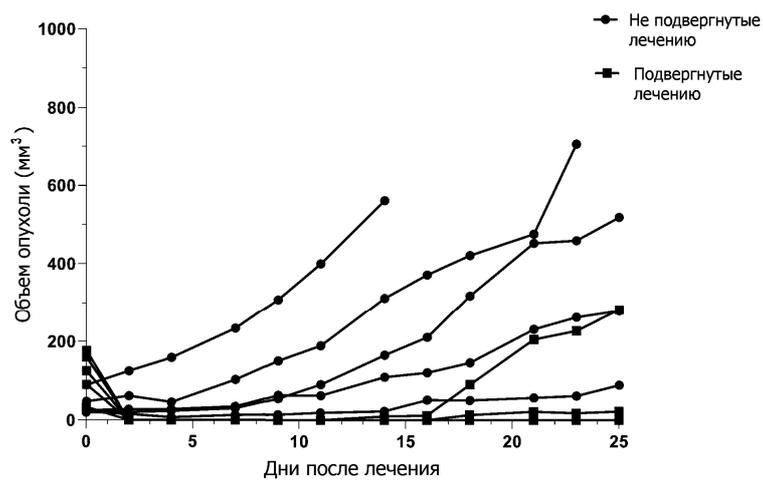
12,13-ди-гептаноил-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 24);

12,13-ди-(3-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 25); или его фармацевтически приемлемая соль.

16. Способ по п.15, в котором соединение представляет собой 12-тиглоил-13-(2-метилбутаноил)-6,7-эпокси-4,5,9,12,13,20-гексагидрокси-1-тиглиен-3-он (соединение 1).



Индивидуум, получавший 7,5 мкг соединения 1



Фиг. 2b



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2