

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202391348 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.09.21

(22) Дата подачи заявки
2021.11.18

(51) Int. Cl. *A61K 31/506* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/04 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ 4-АМИНО-N-[4-(МЕТОКСИМЕТИЛ)ФЕНИЛ]-7-(1-МЕТИЛЦИКЛОПРОПИЛ)-6-(3-МОРФОЛИНОПРОП-1-ИН-1-ИЛ)-7Н-ПИРРОЛО[2,3-d]ПИРИМИДИН-5-КАРБОКСАМИДА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ

(31) 63/116,282; 63/229,626

(32) 2020.11.20; 2021.08.05

(33) US

(86) PCT/EP2021/082120

(87) WO 2022/106529 2022.05.27

(71) Заявитель:

ХЕЛСИНН ХЕЛСКЕА СА (СН);
ТАЙХО ФАРМАСЬЮТИКЛ КО.,
ЛТД. (JP)

(72) Изобретатель:

Ловати Эмануэла, Джорджино
Рубен (СН), Дория Симона,
Джулиано Клаудио (ИТ), Бонифачо
Аннализа (СН), Игараси Михару,
Миядзаки Исао, Като Масанори (JP),
Бернареджи Альберто (СН)

(74) Представитель:

Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)

(57) В изобретении описаны композиции и способы лечения пациентов, страдающих раком, который имеет аномалию гена RET, включающие введение HM06/TAS0953, например, пациентам с немелкоклеточным раком легкого (NSCLC) и которые могут иметь также метастазы в головной мозг и/или лептоменингеальные метастазы, или другую солидную опухоль; при этом пациенту вводят в эффективном количестве HM06/TAS0953, где HM06/TAS0953 можно приготавливать в виде композиции и вводить орально в виде одной или нескольких доз; и при этом пациенты могли получать ранее и/или у них могла развиться устойчивость к другому селективному ингибитору RET или мультиткиназному ингибитору.

A1

202391348

202391348

A1

СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ 4-АМИНО-N-[4-(МЕТОКСИМЕТИЛ)ФЕНИЛ]-7-(1-
МЕТИЛЦИКЛОПРОПИЛ)-6-(3-МОРФОЛИНОПРОП-1-ИН-1-ИЛ)-7Н-
5 ПИРРОЛО[2,3-d]ПИРИМИДИН-5-КАРБОКСАМИДА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
ОПУХОЛЕЙ

I. Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка претендует на приоритет предварительной заявки на
10 патент США № 63/116282, поданной 20 ноября 2020 г., и предварительной
заявки на патент США № 63/229626, поданной 5 августа 2021 г., содержание
каждой из которых в полном объеме включено в настоящее описание в качестве
ссылки для любой цели.

II. Область техники, к которой относится изобретение

15 Настоящая заявка относится к композициям и способам лечения
страдающих раком пациентов с аномалией гена RET, включающим введение
НМ06.

III. Предпосылки создания изобретения

Рецепторные тирозинкиназы (РТК) играют важную роль в разнообразных
20 клеточных процессах, включая рост, подвижность, дифференцировку и
метаболизм. Таким образом, нарушение регуляции передачи сигналов РТК
приводит к целому ряду заболеваний человека, таких как рак. Известны
различные изменения в генах, кодирующих РТК, таких как EGFR, HER2/ErbB2,
MET и RET (реаранжированный при трансфекции, REarranged during
25 Transfection). RET представляет собой однопроходную трансмембранную
рецепторную тирозинкиназу, которая необходима для нормального развития,
созревания и поддержания некоторых типов тканей и клеток (Airaksinen M.S. и
др., Nat Rev Neurosci, 3(5), 2002, сс. 383-394; Alberti L. и др., J Cell Physiol.
195(2), 2003, сс. 168-186). Активация RET происходит в результате онкогенных
30 мутаций при семейном и спорадическом раке, например, раке щитовидной
железы (папиллярная/медуллярная карцинома щитовидной железы) и легкого,
таком как немелкоклеточный рак легкого (NSCLC). Недавно было установлено
также, что RET участвует, среди прочего, в прогрессировании опухолей

молочной железы и поджелудочной железы (Mulligan L.M., Nat Rev Cancer. 14(3), 2014, сс. 173-186.) Аномалии гена RET были обнаружены также при метастазах в головной мозг и/или лептоменингеальных метастазах. Пациенты с запущенным NSCLC с реаранжированным геном RET могут иметь метастазы в центральную нервную систему (ЦНС).

Установлено, что ген RET является онкогенным драйвером при активации, обусловленной генными аномалиями, такими как хромосомные реаранжировки (слияния генов RET), точечные мутации, увеличение количества копий, сверхэкспрессия или лиганд-индуцированная активация. Активированные низлежащие пути, приводящие к клеточной пролиферации, миграции и дифференцировке, включают пути RAS/MEK/ERK, P13K/АКТ, JAK/STAT, p38, MAPK и протеинкиназы С. Часть домена RET-киназы сохраняется при слияниях, оставляя неизменной активность низлежащей внутриклеточной киназы. Слияния гена RET могут происходить при NSCLC (частота встречаемости 1-2%), папиллярной карциноме щитовидной железы (PTC), колоректальном раке (например, слияние CCDC6–RET) и раке молочной железы (например, слияние ERC1–RET). Точечные мутации гена RET встречаются при многих наследственных формах медуллярной карциномы щитовидной железы (МТС), включая множественную эндокринную неоплазию 2А (MEN2А), семейную медуллярную карциному щитовидной железы (FMTC) и MEN2В. При спорадической МТС мутации RET идентифицированы у вплоть до 50% пациентов. Увеличение количества копий гена RET происходит при NSCLC, раке молочной железы, раке поджелудочной железы и глиобластоме (Ferrara R. и др., J Thorac Oncol. 13(1), 2017, сс. 27-45; Mulligan L.M., Nat Rev Cancer. 14(3), 2014, сс.173-186; Mulligan L.M., Front Physiol. 9, 2019, с. 1873.)

Слияния гена RET представляют собой новые онкогенные драйверы при NSCLC. Слияния RET при NSCLC в огромном числе случаев являются взаимоисключающими с мутациями в EGFR, KRAS, ALK, HER2 и BRAF, это позволяет предположить, что слияния RET являются независимыми онкогенными драйверами при NSCLC. Эти неоднократно повторяющиеся генные слияния были впервые обнаружены в конце 2011 г. и с тех пор были подтверждены несколькими независимыми исследователями (Ju Y.S. и др., Genome Res. 22(3), 2012, сс. 436-445; Suehara Y. и др., Clin Cancer Res. 18(24),

2012, сс. 6599-608.) Указанные слияния являются онкогенными, например, когда они экспрессируются в клетках Ba/F3 и NIH-3T3, и эти клетки могут приобретать чувствительность к различным ингибиторам RET, включая сорафениб, сунитиниб и вандетаниб (Lipson D. и др., Nat Med. 18(3), 2012, сс. 382-384; Takeuchi K. и др., Nat Med. 18(3), 2012, сс. 378-381.)

Установлено, что мультикиназные ингибиторы (МКИ), обладающие активностью в отношении рецепторной тирозинкиназы RET, такие как кабозантиниб, вандетаниб и ленватиниб, обладают ограниченной эффективностью у небольшой части пациентов с медуллярным раком щитовидной железы и с NSCLC, имеющими RET-слияние (Drilon A. и др., Cancer Discov. 3(6), 2013, сс. 630-635; Drilon A. и др., Lancet Oncol. 17(12), 2016, сс. 1653-1660; Drilon A. и др., Cancer Discov. 9(3), 2019, сс. 384-395.) Величина общей клинической пользы, которая достигается при применении указанных МКИ, может быть ниже по сравнению с результатами таргетной терапии у пациентов с различными молекулярными подтипами NSCLC. Более того, оценке профиля соотношения «риск/польза» могут препятствовать признаки тяжелой токсичности, возникающей в результате более сильного ингибирования не-RET-киназ, таких как VEGFR2 (Ferrara R. и др., J Thorac Oncol. 13(1), 2017, сс. 27-45.)

Два селективных ингибитора RET селперкатииниб (LOXO-292) (NCT03157128) и пралсетиниб (BLU-667) (NCT03037385) были одобрены Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США в 2020 г. для лечения взрослых пациентов с метастатическим немелкоклеточным раком легкого, позитивным по RET-слиянию (Wirth L. и др., Ann Oncol. 30(дополнение 5), 2019, v933; Drilon A. и др., J Thorac Oncol. 14(10), 2019, сс. 6-7.) В декабре 2018 г. и ноябре 2019 г. начата клиническая фаза испытаний селективных ингибиторов RET BOS-172738 и TPX-0046 (NCT03780517 и NCT04161391 соответственно.) Указанные RET-специфические лекарственные средства не были тщательно протестированы на образцах или моделях животных, устойчивых к мультикинасным ингибиторам, таким как кабозантиниб, вандетаниб и RDX-105.

Также остается неясным, насколько эффективны указанные RET-специфические ингибиторы против различных видов рака легкого, которые дали метастазы в головной мозг. Продолжительность ответа ЦНС, а также влияние на

задержку возникновения метастазов в головной мозг пока не известны. В целом, ЦНС, включая головной мозг, защищена гематоэнцефалическим барьером (ГЭБ), защитной эндотелиальной тканью, окружающей ЦНС, которая является основным препятствием для системной доставки высокомолекулярных терапевтических и диагностических агентов в ЦНС. Проникновение в головной мозг лекарственных средств для лечения неврологических расстройств, таких, например, как крупные биотерапевтические лекарственные средства или даже низкомолекулярные лекарственные средства с низкой способностью проникать в головной мозг, ограничено, в частности, обширным и непроницаемым ГЭБ.

10 Пациенты с аномалиями RET страдают редким заболеванием и для них существует высокая неудовлетворенная потребность в медицинской помощи. Несмотря на связанное с внедрением новых таргетных терапий улучшение клинических путей лечения, у многих пациентов в конечном итоге наступает рецидив. Пациенты, у которых прогрессирует заболевание, имеют ограниченные возможности лечения; поэтому по-прежнему необходимы новые средства для лечения пациентов с рецидивами. Более того, доступна ограниченная информация о частоте, чувствительности и общих исходах при метастазах в ЦНС у пациентов с запущенной формой NSCLC, характеризующейся реаранжированным RET. Частота поражения ЦНС у этих пациентов составляет 25% на момент постановки диагноза, но пожизненная распространенность может достигать почти половины. Есть данные о низком внутричерепном ответе у пациентов, которых лечили различными мультикиназными ингибиторами (Drilon A.E. и др., J Clin Oncol. 35(15_Suppl), 2015, 9069; Gautschi O. и др., J Clin Oncol. 35(13), 2017, сс. 1403-1410).

25 Таким образом, существует потребность в новом ингибиторе RET, способном преодолевать рецидивы со стороны ЦНС с благоприятным профилем переносимости. Наличие эффективного и селективного ингибитора RET могло бы обеспечивать также клиническую пользу для пациентов, которых ранее не лечили таргетирующими RET агентами, а также для пациентов с обуславливающими устойчивостью мутациями. Высокая проникающая способность в ЦНС также может обеспечивать существенное клиническое улучшение у пациентов с NSCLC с метастазами в головной мозг или лептоменингеальным заболеванием.

Специфический для RET ингибитор, обозначенный в настоящем описании как «HM06» или «TAS0953/HM06», или «HM06/TAS0953» проходит клинические испытания. HM06/TAS0953 представляет собой эффективный и высокоселективный ингибитор фосфорилирования RET. Противоопухолевая эффективность HM06/TAS0953, установленная на доклинических моделях, подтверждает терапевтический интерес к клиническому применению этого селективного ингибитора RET. HM06/TAS0953 ингибировал рост клеточных линий рака легкого, имеющих реаранжированный RET, полученных из образцов, взятых у пациентов, которых ранее никогда не лечили ингибитором RET.

Результаты продемонстрировали, что HM06/TAS0953 оказался более эффективным, чем мультикиназные ингибиторы RET, в отношении роста клеточных линий, несущих слияния RET. HM06/TAS0953 тестировали также в отношении клеточных линий из образцов, взятых у пациентов, устойчивых к различным мультикиназным соединениям-ингибиторам RET. Указанные результаты позволяют предположить, что HM06/TAS0953 обладает также эффективностью в отношении клеточных линий, устойчивых к различными мультикиназным ингибиторам RET и рефрактерным к ингибирующему действию кабозантиниба, RDX-105 и вандетаниба.

Дополнительные результаты доклинических испытаний продемонстрировали, что HM06/TAS0953 обладает ингибирующей активностью в отношении ксенотрансплантатов солидных опухолей, включая ортотопическую ксенотрансплантационную модель метастазирования рака легкого в головной мозг. Указанные данные свидетельствуют о том, что HM06/TAS0953 проникает в головной мозг и обладает эффективностью в головном мозге в отношении опухолей, имеющих аномалии гена RET.

HM06/TAS0953 может обеспечивать клиническую пользу, потенциально не сопровождающуюся побочными реакциями, возникающими в результате ингибирования не-RET-киназ. Например, HM06/TAS0953 может обеспечивать улучшенный вариант лечения и регулирования заболевания у пациентов с NSCLC с метастазами в головной мозг и/или лептоменингеальным заболеванием. Кроме того, HM06/TAS0953 может быть ценным для пациентов, устойчивых к другим ингибиторам RET-киназы или мультикиназным ингибиторам (например, у которых прогрессировала или развилась

непереносимость другого лекарственного средства). Учитывая ограниченное число пациентов с опухолями, несущими аномалии гена RET, и редкость заболевания с высокой неудовлетворенной медицинской потребностью, для пациентов может оказаться ценным лечение с помощью HM06/TAS0953.

5 IV. Краткое описание сущности изобретения

В настоящем изобретении предложены композиции и способы лечения пациентов, имеющих рак с аномалией гена RET, включающие введение HM06/TAS0953.

10 В настоящем описании предложен способ лечения больного человека, страдающего немелкоклеточным раком легкого (NSCLC) с аномалией гена RET, который включает введение больному человеку композиции, содержащей 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 40 мг до примерно 3000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид в форме свободного основания.

20 В настоящем описании предложен также способ лечения больного человека, страдающего местнораспространенным или метастатическим немелкоклеточным раком легкого (NSCLC) с аномалией гена RET, который включает введение больному человеку композиции, содержащей 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 40 мг до примерно 3000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид в форме свободного основания.

30 Кроме того, в настоящем описании предложен способ лечения больного человека, страдающего метастатическим немелкоклеточным раком легкого (NSCLC) с аномалией гена RET с метастазами в головной мозг и/или лептоменингеальными метастазами, который включает введение больному человеку композиции, содержащей 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-

d]пиримидин-5-карбоксамид, в котором больному человеку вводят в эффективном количестве 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид.

5 В настоящем описании предложен также способ лечения больного человека, имеющего солидную опухоль с аномалией гена RET, который включает введение больному человеку композиции, содержащей 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 40 мг до примерно 3000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид в форме свободного основания.

15 В настоящем описании предложен также способ лечения больного человека, имеющего солидную опухоль с аномалией гена RET, который включает введение больному человеку композиции, содержащей 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид, где аномалия гена RET представляет собой мутацию фронта растворения белка RET.

20 В настоящем описании предложен также способ лечения больного человека, имеющего солидную опухоль с аномалией гена RET с метастазами в головной мозг и/или лептоменингеальными метастазами, который включает введение больному человеку композиции, содержащей 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид, в котором больному человеку вводят в эффективном количестве 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид.

30 В некоторых вариантах осуществления изобретения эффективное количество представляет собой суточную дозу, эквивалентную от примерно 40 мг до примерно 3000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид в форме свободного основания.

В некоторых вариантах осуществления изобретения метастазы в головной мозг и/или лептоменингеальные метастазы являются бессимптомными.

В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 150 мг до примерно 640 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 640 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 320 мг до примерно 640 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 480 мг до примерно 640 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную примерно 640 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 480 мг до примерно 3000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 480 мг до примерно 2000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную

дозу, эквивалентную от примерно 480 мг до примерно 1500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят

5 суточную дозу, эквивалентную от примерно 480 мг до примерно 1280 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от

10 примерно 480 мг до примерно 1000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 640 мг до примерно 3000 мг 4-амино-N-[4-

15 (метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 640 мг до примерно 2000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-

20 морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 640 мг до примерно 1500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-

25 d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 640 мг до примерно 1280 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В

30 некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 640 мг до примерно 1000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в

форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную примерно 3000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в

5 форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную примерно 2000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в

10 форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную примерно 1500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в

15 форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную примерно 1280 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в

20 форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную примерно 1000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в

форме свободного основания.

В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 150 мг до примерно 500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-

25 морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-

30 метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную примерно 150 мг или примерно 160 мг 4-амино-N-[4-

(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию вводят орально. В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию вводят орально в виде одной таблетки или нескольких таблеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения каждая таблетка содержит дозу, эквивалентную примерно 10 мг или примерно 50 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит дигидрохлорид 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция дополнительно содержит лимонную кислоту, микрокристаллическую целлюлозу, лактозу, поливинил-N-пирролидон, лаурилсульфат натрия и/или глицерилбегенат.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию вводят орально один раз в день (QD) или два раза в день (BID). В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию вводят два раза в день (BID).

В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 1500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, два раза в день (BID). В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят дозу эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 1000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, два раза в день (BID). В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 750 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, два раза в день (BID). В некоторых вариантах осуществления

изобретения больному человеку вводят дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 640 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, два раза в день (BID). В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, два раза в день (BID). В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 320 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, два раза в день (BID).

В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят дозу, эквивалентную примерно 320 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, два раза в день (BID). В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят дозу, эквивалентную примерно 500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, два раза в день (BID). В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят дозу, эквивалентную примерно 640 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, два раза в день (BID). В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят дозу, эквивалентную примерно 750 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, два раза в день (BID). В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят дозу, эквивалентную примерно 1000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-

7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, два раза в день (BID). В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят дозу, эквивалентную примерно 1500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-
5 7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, два раза в день (BID).

В некоторых вариантах осуществления изобретения доза является одинаковой как для пациента весом более 50 кг, так и для пациента весом менее 50 кг.

10 В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию вводят в течение по меньшей мере одного 21-дневного цикла лечения.

В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET представляет собой по меньшей мере одну из следующих аномалий: слияние гена RET, точечную мутацию, делеционную мутацию, увеличение количества
15 копий, сверхэкспрессию любой одной или нескольких аномалий и сверхэкспрессию гена RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET представляет собой слияние гена RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET представляет собой слияние гена RET с CCDC6, KIF5B или TRIM33.

20 В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET представляет собой мутацию, обуславливающую устойчивость белка RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации фронта растворения белка RET и/или мутации в шарнирной области белка RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена
25 RET приводит к мутации белка RET в аминокислотном остатке 730, 736, 760, 772, 804, 806, 807, 808, 809, 810 и/или 883. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET в аминокислотном остатке 804, 806, 807, 808, 809 и/или 810. В некоторых
30 вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET в аминокислотном остатке 810. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET, включающей: а) мутацию V804X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от валина или глутаминовой кислоты; б) мутацию Y806X, где X

обозначает любую аминокислоту, отличную от тирозина; в) мутацию A807X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от аланина; г) мутацию K808X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от аланина; д) мутацию Y809X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от тирозина; и/или е) мутацию G810X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от глицина.

В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET, включающей: а) мутацию L730Q или L730R; б) мутацию G736A; в) мутацию L760Q; г) мутацию L772M; д) мутацию V804L или V804M; е) мутацию Y806C, Y806S, Y806H или Y806N; ж) мутацию G810R, G810S, G810C, G810V, G810D или G810A; и/или мутацию A883V. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET, включающей: а) мутацию V804L или V804M; б) мутацию Y806C, Y806S, Y806H или Y806N; и/или в) мутацию G810R, G810S, G810C, G810V, G810D или G810A. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации G810R, G810S, G810C, G810V, G810D, или G810A в белке RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации G810R в белке RET.

В некоторых вариантах осуществления изобретения рак или опухоль обладает устойчивостью по меньшей мере к одному мультикиназному ингибитору. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак или опухоль обладает устойчивостью по меньшей мере к одному селективному ингибитору RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак или опухоль не обладает устойчивостью к 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамиду и обладает устойчивостью по меньшей мере к одному другому селективному ингибитору RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак или опухоль обладает устойчивостью к селперкатинибу и/или пралсетинибу. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак или опухоль содержит клетки, устойчивые к селперкатинибу и/или пралсетинибу.

В некоторых вариантах осуществления изобретения больной человек ранее подвергался лечению рака или опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак или опухоль, подлежащие лечению, прогрессировали после

предшествующего лечения рака или опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения у больного человека развилась непереносимость предшествующего лечения рака или опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения больного человека ранее подвергали лечению мультикиназным ингибитором. В некоторых вариантах осуществления изобретения больного человека ранее подвергали лечению кабозантинибом, вандетанибом, ленватинибом и/или RXDX-105. В некоторых вариантах осуществления изобретения больного человека ранее подвергали лечению селективным ингибитором RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения больного человека ранее подвергали лечению селперкатинибом и/или пралсетинибом. В некоторых вариантах осуществления изобретения больного человека ранее не подвергали лечению селективным ингибитором RET.

В некоторых вариантах осуществления изобретения больной человек страдает по меньшей мере одним из следующих видов рака: рак слюнных желез, рак легкого, колоректальный рак, рак щитовидной железы, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, рак яичников, рак кожи и рак головного мозга. В некоторых вариантах осуществления изобретения больной человек страдает по меньшей мере одним из следующих видов рака: медуллярный или анапластический рак щитовидной железы, метастатический рак молочной железы и метастатическая аденокарцинома поджелудочной железы.

Дополнительные цели и преимущества частично изложены в представленном ниже описании, а частично должны стать понятными из описания или могут стать очевидными при воплощении изобретения на практике. Цели и преимущества могут быть реализованы и достигнуты с помощью элементов и комбинаций, конкретно указанных в прилагаемой формуле изобретения.

Следует понимать, что как представленное выше общее описание, так и представленное ниже подробное описание даны только для примера и объяснения и не ограничивают формулу изобретения.

Прилагаемые чертежи, которые включены в данную спецификацию и составляют ее часть, иллюстрируют один вариант (несколько вариантов) осуществления изобретения и вместе с описанием служат для объяснения принципов, изложенных в настоящем описании.

V. Краткое описание чертежей

На чертежах показано:

- на фиг. 1А, 1В, 1В и 1Г – данные об эффективности НМ06/TAS0953 на модели местастазов в головной мозг, содержащих слияние KIF5B-RET Lnc. На
- 5 фиг. 1 – данные о противоопухолевой активности НМ06/TAS0953 в сравнении с применяемым в качестве контроля наполнителем при введении в дозе 50 мг/кг ВІD. На фиг. 1Б - процент изменения веса тела мышей с метастазами в головной мозг, содержащими слияние KIF5B-RET Lnc, при обработке НМ06/TAS0953 по сравнению с обработанными наполнителем контрольными мышами. На фиг. 1В –
- 10 данные, демонстрирующие более высокий коэффициент выживаемости в группе, обработанной НМ06/TAS0953, по сравнению с контрольной обработанной наполнителем группой. На фиг. 1Г – изображения, полученные с помощью визуализации *in vivo* (IVIS), и картина патологии в головном мозге мышей, обработанных НМ06/TAS0953, в сравнении с контролем;
- 15 на фиг. 2 – данные о воздействии НМ06/TAS0953 на объем опухолей, содержащих слияние KIF5B-RET, которые получены на мышинной модели рефрактерной к вандетанибу опухоли, в сравнении с непрерывной обработкой вандетанибом;
- на фиг. 3А, 3Б, 3В, 3Г, 3Д и 3Е – данные об эффективности НМ06/TAS0953
- 20 в отношении ингибирования роста позитивных по RET-слиянию клеточных линий в сравнении с тремя мультикиназными ингибиторами RET: кабозантинибом, RXDX-105 и вандетанибом. На фиг. 3А – данные, полученные при обработке наивной в отношении такой обработки клеточной линии, полученной из образца, взятого у пациента, который никогда не подвергался
- 25 противораковой терапии (имеющего слияние KIF5B-RET). На фиг. 3Б – данные, полученные при обработке клеточной линии, содержащей слияние CCDC6-RET. На фиг. 3В – данные о воздействии на изогенную копию этой линии клеток, которая экспрессирует «пустую» контрольную плазмиду. На фиг. 3Г – данные, полученные при обработке клеточной линии, содержащей слияние TRIM33-RET.
- 30 На фиг. 3Д – данные, которые получены при обработке клеточной линии, полученной из образца, взятого у пациента, устойчивого к кабозантинибу (имеющего слияние CCDC6-RET). На фиг. 3Е - данные, которые получены при

обработке клеточной линии, полученной из образца, взятого у пациента, устойчивого к RXDX-105;

на фиг. 4А, 4Б и 4В – данные об эффективности HM06/TAS0953 в отношении роста ксенотрансплантатов опухолей 3Т3-CCDC6-RET. На фиг. 4А – изменение объема каждой индивидуальной опухоли с начала до конца периода обработки. Результаты представлены в виде среднего значения \pm SE для 5 независимых опухолей в каждый момент времени. На фиг. 4Б – изменение объема каждой опухоли. * $P < 0,05$, при сравнении с обработанной наполнителем группой. На фиг. 4В – зависимость веса тела животных от времени. Результаты представлены в виде среднего значения \pm SE для 5 животных на группу;

на фиг. 5А, 5Б и 5В – данные об эффективности HM06/TAS0953 в отношении роста ксенотрансплантатов опухолей (имеющих слияние TRIM33-RET). На фиг. 5А - зависимость объема опухолей от времени. Результаты представлены в виде среднего значения \pm SE для 5 независимых опухолей в каждый момент времени. На фиг. 5Б – изменение объема каждой индивидуальной опухоли с начала до конца периода обработки. Обнаружено значимое снижение среднего объема опухолей во всех группах по сравнению с обработанной наполнителем группой ($p < 0,05$). На фиг 5В – зависимость веса тела животных от времени. Результаты представлены в виде среднего значения \pm SE для 5 животных на группу. Обнаружено значимое снижение веса тела животных в обработанной вандетанибом группе во все моменты времени с начала периода обработки ($p < 0,05$);

на фиг. 6А, 6Б и 6В – данные об эффективности HM06/TAS0953 в отношении PDX-опухолей, полученных из образцов опухолей, взятых у пациента, который перестал давать ответ на кабозантиниб (CCDC6-RET). На фиг. 6А – зависимость объема опухолей от времени. Результаты представлены в виде среднего значения \pm SE для 5 независимых опухолей в каждый момент времени. На фиг. 6 – изменение объема каждой независимой опухоли с начала до конца периода обработки. Обнаружено значимое снижение среднего объема опухолей во всех группах по сравнению с обработанной наполнителем группой ($p < 0,05$). На фиг 6В – зависимость веса тела животных от времени. Результаты представлены в виде среднего значения \pm SE для 8 животных на группу;

на фиг. 7А, 7Б и 7В – данные об эффективности НМ06/ТАS0953 в отношении роста PDX-опухолей, полученных из организма пациента, устойчивого к терапии с использованием RXDX-105 (CCDC6-RET). На фиг. 7А – зависимость объема опухолей от времени. Результаты представлены в виде среднего значения \pm SE для 5 независимых опухолей в каждый момент времени. На фиг. 7Б – изменение объема каждой независимой опухоли с начала до конца периода обработки. Обнаружено значимое снижение среднего объема опухолей во всех группах по сравнению с обработанной наполнителем группой ($p < 0,05$). На фиг. 7В – зависимость веса тела животных от времени. Результаты представлены в виде среднего значения \pm SE для 5 животных на группу;

на фиг. 8А, 8Б и 8В – данные об эффективности НМ06/ТАS0953 в отношении роста PDX-опухолей, полученных из организма пациента, дающего слабый ответ на RXDX-105 (CCDC6-RET). На фиг. 8А – зависимость объема опухолей от времени. Результаты представлены в виде среднего значения \pm SE для 5 независимых опухолей в каждый момент времени. Обнаружено значимое снижение объема опухолей во всех группах по сравнению с обработанной наполнителем группой ($p < 0,05$). На фиг. 8Б – изменение объема каждой независимой опухоли с начала до конца периода обработки. Одна опухоль в группе, обработанной НМ06/ТАS0953 в дозе 100 мг/кг QD, увеличилась всего лишь на 20,7%. На фиг. 8В – зависимость веса тела животных от времени. Результаты представлены в виде среднего значения \pm SE для 5 животных на группу;

на фиг. 9А, 9Б и 9В – данные об эффективности НМ06/ТАS0953 в отношении роста опухолей, имплантированных в головной мозг мышей (слияние TRIM33-RET). На фиг. 9А – изображения, полученные с помощью биолюминесцентных сигналов в начале и в конце периода обработки. На фиг. 9Б – результаты количественной оценки люминесценции (слева) и измерения веса тела животных (справа). Обнаружено значимое снижение объема опухолей во всех группах по сравнению с обработанной наполнителем группой ($p < 0,05$). Результаты представлены в виде среднего значения \pm SE для 5 (наполнитель) или 4 (НМ06) животных. На рис. 9В - график Каплана-Мейера, демонстрирующий выживаемость несущих опухоли мышей на протяжении всего исследования;

на фиг. 10А, 10Б, 10В и 10Г – данные об эффективности НМ06/ТАS0953, вандетаниба и LOХО-292 в отношении роста опухолей, имплантированных в головной мозг мышей (слияние TRIM33-RET). На фиг. 10А - репрезентативные биолуминесцентные изображения через 33 и 93 дня после имплантации клеток.

5 На фиг. 10Б – результаты количественной оценки люминесцентных сигналов. Результаты представлены в виде среднего значения \pm SE для 6 животных на группу. На фиг. 10В- график Каплана-Мейера, демонстрирующий выживаемость несущих опухоли мышей на протяжении всего исследования.

10 Скорректированные значения p для сравнения групп, получавших НМ06 и LOХО-292, приведены под графиком. На фиг 10Г – вес тела животных на протяжении исследования;

на фиг. 11А, 11Б и 11В – фармакокинетические профили НМ06/ТАS0953 в организме крыс. На фиг. 11А – данные о концентрации в плазме с течением времени после однократного орального введения НМ06/ТАS0953 в дозе 3, 10, 30
15 и 50 мг/кг. На фиг. 11Б - данные о концентрации в плазме с течением времени после однократного IV-введения НМ06/ТАS0953 в дозе 3 мг/кг. На фиг. 11В – фармакокинетический профиль НМ06/ТАS0953 в префронтальной коре головного мозга (PFC), спинномозговой жидкости (CSF) и плазме (общее количество и свободная фракция) свободно передвигающихся взрослых самцов
20 крыс линии Han® Wistar после орального введения в дозе 10 мг/кг. Соотношение между концентрациями свободной фракции в плазме и в свободной фракции в головном мозге 1:1 свидетельствует о том, что НМ06/ТАS0953 свободно пересекает гематоэнцефалический барьер;

на фиг. 12А, 12Б и 12В – рентгенографические картины кристаллических
25 структур комплексов RET дикого типа с соединением TAS 1, BLU-667 и LOХО-292 в области аминокислотных остатков 806-810. На фиг 12А – полученные на основе структуры кокристаллов данные, демонстрирующие, что BLU-667 и LOХО-292 связываются с одним и тем же карманом в RET (карман Б), тогда как соединение TAS 1 связывается с другим карманом в RET (карман А) с другим
30 механизмом связывания. На фиг. 12Б – кокристаллические комплексы RET и соединения TAS 1, BLU-667 и LOХО-292, на фиг. 12В - кокристаллические комплексы RET и соединения TAS 1;

на фиг. 13А, 13Б и 13В – данные в воздействиях НМ06/TAS0953, LOXO-292 и BLU-667, полученные на модели, созданной с использованием голых мышей, несущих клетки Ва/Ф3 KIF5В–RET^{G810R}. На фиг. 13А – воздействия на объем опухолей при индивидуальном введении НМ06/TAS0953, LOXO-292 и BLU-667 дважды в день в дозе 10 мг/кг. На фиг. 13Б – воздействия при введении дважды в день в дозе 30 мг/кг. На фиг. 13В – изменение веса тела в течение периода обработки голых мышей, несущих клетки Ва/Ф3 KIF5В–RET^{G810R};

на фиг. 14А и 14Б – данные о воздействиях НМ06/TAS0953, LOXO-292 и BLU-667, полученные на модели, созданной с использованием голых мышей, несущих клетки Ва/Ф3 KIF5В–RET^{G810R}. На фиг. 14А – воздействия на объем опухолей при введении НМ06/TAS0953 дважды в день в дозе 50 мг/кг, и введении каждого из LOXO-292 и BLU-667 дважды в день в дозе 30 мг/кг. На фиг. 14Б - изменение веса тела в течение периода обработки голых мышей, несущих клетки Ва/Ф3 KIF5В–RET^{G810R};

на фиг. 15А и 15Б – данные о фосфорилировании RET в опухолях Ва/Ф3 KIF5В–RET^{G810R} через 1 ч после введения НМ06/TAS0953, BLU-667 и LOXO-292. Мышам, несущим Ва/Ф3 KIF5В–RET^{G810R}, однократно вводили орально НМ06/TAS0953 в дозе 10, 30 или 50 мг/кг или LOXO292 и BLU667 в дозе 10 или 30 мг/кг соответственно. Опухоли изымали и лизировали через 1 ч после введения дозы. Осуществляли иммуноблоттинг клеточных лизатов для обнаружения указанных белков.

Описание некоторых последовательностей

В таблице 1 представлен перечень некоторых последовательностей, указанных в настоящем описании.

Таблица 1: Описание конкретных последовательностей		
SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
1	agtcccgcga ccgaagcagc gcgcgagca gcgctgagtg ccccggaacg tgcgtcgcgc cccagtgtc cgtcgcgtcc gccgcgcccc gggcggggat gggcgggcca gactgagcgc cgcacccgcc atccagacc gccggccta gccgcagtcc ctccagccgt ggccccagcg cgcacggcg atggcgaaag cgacgtcccg tgccgcgggg ctgcgtctgc tgttgctgct gctgctgccg ctgctaggca aagtggcatt gggcctctac ttctcgaggg atgcttactg ggagaagctg tatgtggacc aggcagccgg cacgcccttg ctgtacgtcc atgccctgcg ggacgccctt gaggaggtgc ccagcttccg cctggggccag catctctacg gcacgtaccg cacacggctg catgagaaca actggatctg catccaggag gacaccggcc tcctctacct taaccggagc ctggaccata gtcctctggga gaagctcagt gtccgcaacc gcggctttcc cctgctcacc gtctacctca aggtcttctc gtcaccaca	Пример последовательности МРНК протоонкогена <i>ret homo sapiens</i> (RET) Референс-последовательность NCBI: NM_020975.6

Таблица 1: Описание конкретных последовательностей

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
	tcccttcggtg agggcgagtg ccagtggcca ggctgtgccc gcgtatactt ctccctcttc aacacctcct ttccagcctg cagctccctc aagccccggg agctctgctt cccagagaca aggcctcct tccgcattcg ggagaaccga cccccaggca ccttccaacca gttecgctg ctgcctgtgc agttcttgtg ccccaacatc agcgtggcct acaggctcct ggaggggtgag ggtctgccct tccgctgctg cccggacagc ctggaggtga gcaacggctg ggccctggac cgggagcagc gggagaagta cgagctggtg gccgtgtgca cctgtcacgc cggcgctgctg gaggaggtgg tgatggtgcc cttccccggtg accgtgtacg acgaggacga ctccggcccc accttccccg cgggctgctga caccgccagc gccgtggtgg agttcaagcg gaaggaggac accgtggtgg ccacgctgctg tgtcttcgat gcagacgtgg tacctgcatc aggggagctg gtgagggcgt acacaagcac gctgtcccc ggggacacct gggcccagca gaccttccgg gtggaacact ggccccaaag gacctcggtc caggccaacg gcagcttcgt gggggcgacc gtacatgact ataggctggt tetcaaccgg aacctctcca tctcggagaa ccgcacctg cagctggcgg tgctggtcaa tgactcagac ttccagggcc caggagcggg cgtcctcttg ctccacttca acgtgtcggg gctgcccgtc agcctgcacc tgcccagtac ctactccctc tccgtgagca ggagggctcg ccgatttgcc cagatcggga aagtctgtgt ggaaaactgc caggcattca gtggcatcaa cgtccagtac aagctgcatt cctctgggtg caactgcagc acgctagggg tggtcacctc agccgaggac acctcgggga tctgtttgt gaatgacacc aaggccctgc ggcggcccaa gtgtgccgaa cttcactaca tgggtggggc caccgaccag cagacctta ggcaaggcca ggcccagctg cttgtaacag tggaggggtc atatgtggcc gaggaggcgg gctgccccct gtctgtgca gtcagcaaga gacggctgga gtgtgaggag tgtggcggcc tggctcccc aacaggcagg tgtgagtga ggcaaggaga tggcaaagg atcaccagga acttctccac ctgctctccc agcaccaaga cctgccccga cggccactgc gatgttgtgg agacccaaga catcaacatt tgcctcagg actgcctccg gggcagcatt gttggggac acgagcctgg ggagccccgg gggattaag ctggctatgg cacctgcaac tgcttccctg aggagagaa gtgcttctgc gagcccgaag acatccagga tccactgtgc gacgagctgt gccgcacggg gatcgagcc gctgtcctct tctccttcat cgtctcgggtg ctgctgtctg ccttctgcat ccaactgctac cacaagtttg cccacaagcc acccatctcc tcagctgaga tgaccttccg gaggcccgc caggccttcc cggtcagcta ctctcttcc ggtgcccgcg gccctcgtc ggactccatg gagaaccagg tctccgtgga tgccctcaag atcctggagg atccaaagtg ggaattccct cggagaagact tggttcttgg aaaaactcta ggagaaggcg aatttgaaa agtggtaag gcaacggcct tccatctgaa aggcagagca gggtaacca cgggtggcctg gaagatgctg aaagagaacg cctccccgag tgagctgcga gacctgctgt cagagttcaa cgtcctgaag caggtaacc acctacatgt catcaaattg tatggggcct gcagccagga tggcccgtc ctctcatcg tggagtacgc caaatcggc tccctgctgg gcttctccg cgagagccgc aaagtggggc ctggctacct gggcagtgga ggcagccgca actccagctc cctggaccac ccggatgagc gggccctcac catggggcag ctcatctcat ttgctggca gatctcacag gggatgcagt atctggcga gatgaagctc gttcatcggg acttggcagc cagaaacatc ctggtagctg agggcgga gatgaagatt tcggatttctg gcttgtcccc agatgtttat gaagaggatt cctacgtgaa gaggagccag ggtcggatc cagttaaatg gatggcaatt gaatccctt ttgatcatat ctacaccacg caaagtgatg tatggctctt tgggtgctctg ctgtgggaga tctgaccct agggggaaac ccctatcctg ggatcctcc tgagcggctc ttcaaccttc tgaagaccgg ccaccggatg gagaggccag acaactgcag cgaggagatg taccgcctga tgctgcaatg ctggaagcag gagccggaca aaaggccggg gtttgcggac atcagcaaag acctggagaa gatgatgggt aagaggagag actacttga ccttgcggcg tccactccat ctgactcctt gatttatgac gacggcctct cagaggagga gacaccgctg gtggactgta ataatgcccc cctccctcga gccctccctt ccacatggat tgaaaacaaa ctctatggca tgtcagaccc gaactggcct ggagagagtc ctgtaccact cacgagagct gatggcacta aactgggtt tccaagatat	

Таблица 1: Описание конкретных последовательностей

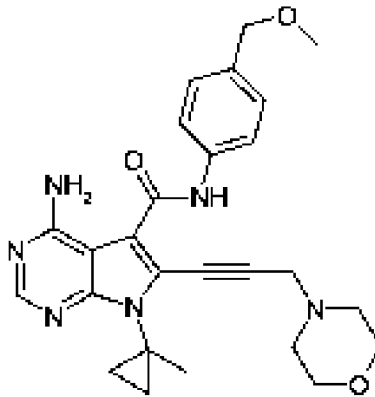
SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
	<pre> ccaaatgata gtgtatatgc taactggatg ctttcaccct cagcggcaaa attaatggac acgtttgata gttaacatth ctttgtgaaa ggtaatggac tcacaagggg aagaaacatg ctgagaatgg aaagtctacc ggccctttct ttgtgaacgt cacattggcc gagccgtggt cagttcccag gtggcagact cgtttttggg agtttgthttt aacttccaag gtggttttac ttctgatagc cgtgatthtt ccctcctagc agacatgcc aaccgggtaa gagctctgag tcttagtggt taagcattcc tttctctca gtgcccagca gcaccagtg ttggtctgtg tccatcagtg accaccaaca ttctgtgthc acatgtgtgg gtccaacact tactacctgg tgtatgaaat tggacctgaa ctgttggttt tttctagttg ccgcaaaaa aggcaaaaa atttaaacat gaagcacaca cacaaaaaag gcagtaggaa aaatgctggc cctgatgacc tgtccttatt cagaatgaga gactgccccg ggggctggg ggtagtgthc atgcccctcc agggctggg ggggaagagg gccccgagga tgggctggg ctccagcatt gagatcttga gaatgatttt ttttaaatac tgcaacctt ccttaggaag acatttggtt tcatcatga ttaagatgat tctagattt agcacaatgg agagattcca tgccatcttt actatgtgga tgggtggtatc aggggaagagg gtcacaaga cacatttgth ccccgggccc accacatcat cctcacgtgt tgggtactga gcagccacta cccctgatga gaacagtatg aagaaaggg gctgttgagg tcccagaatt gctgacagca gaggctthg tgctgtgaaat cccacctgccc accagcctgc agcacacccc acagccaagt agaggcgaag gcagtggtct atcctacctg ttaggagcag gtagggcttg tactcacttt aatttgaaat ttatcaactt actcataaag ggacaggcta gctagctgtg ttagaagtag caatgacaat gaccaaggac tgctacacct ctgattaca ttctgatgtg aaaaagatgg tgtthggctc ttatagagcc tgggtgaaag gccccatggat cagctcttcc tgtgtthgta atttaatgct gctacaagat gthtctgtht cttagattct gacctgact cataagcttc ttgtcattct tcattgcttg tthgtggtca cagatgcaca acactcctcc agtcttgthg gggcagctth tgggaagtct cagcagctct tctggctgtg thgtcagcac tgtaacttgc cagaaaagag tgggattacc aaaacactgc ctgctcttca gacttaaagc actgatagga cttaaaatag tctcattcaa atactgtatt ttatataggc atttcacaaa aacagcaaaa thgtggcatt thgtgaggcc aaggcttgga tgcgtgtgta atagacctt gtgggtgtgt cgcacacacc cagagggaga gthtgaaaa tgcttattgg acacgtaacc tggctctaath thgggctgtt thtcagatac actgtgataa gthctthttac aaatatctat agacatggta aactthtggg thtcagatath gcttaatgat agtcttacta aatgcagaaa taagaataaa cthtctcaaa thattaataaa tgcctacaca gtaagtgtga attgctgcaa caggthtthg ctccaggagg taagaactcc aggtctaaac agctgaccca gtgatgggga atthtctct gaccaatth tccctgacca ataacctaat tgtctattcc tgagttataa aagthccccat cthtattagc tctactggaa thttcataca cgtaaatgca gaagthtact agthattaag thtactgag thtaagtag aatctgtcag thtataataa thgtaaaatc ththtatgaa aggtcathaa accagatcat gthctthttt thgtaatcaa ggthgactaag aaaaactgth gtgtaataaa aatcathgat cataaaa </pre>	
2	<pre> MAKATSGAAGLRLLLLLLLPLLGKVALGLYFSRDAYWEKLYVDQAGTPLLIVHAL RDAPEEVPSFRLGQHLTYRTRLHENNWICIQEDTGLLYLNRSLDHSSWEKLSVR NRGFPLLTVYLKVFSLPSTSLREGECQWPGCARVYFSSFNSTFPACSSLKPRELCFP ETRPSFRIENRPPGTFHQFRLLPVQFLCPNISVAYRLLLEGEGLPFRCAPDSLEVS TRWALDREQREKYLVAVCTVHAGAREEVMVFPVTVYDEDDSAFTFPAGVDTAS AVVEFKREEDTVVATLRVFDADVVPASGELVRRYTTLLPGDQWQQTFRVSHWPN ETSVQANGSFVRATVHDYRVLNRLNLSISENRTMQLAVLVNDSDFQGGPGAGVLLLH FNVSVLPVSLHLPSTYSLVSRARRRFAQIGKVCVENCQAFSGINQYKLVHSSGAN CSTLGVVTS AEDTSGILFVNDTKALRRPKCAELHYMVVATDQQT SRQAQAQLLVTV EGSYVAEEAGCPLS AVSKRLECEECGGLGSP TGRCEWRQGDGKGITRNFSTCSP STKTCPDGHCDV VETQDINICPQDCLRGSIVGGHEPGEPRGIKAGYGTNCNCFPEEE KCFCEPEDIQDPLCDEL CRTVIAAAVLF SFI VSVLLS AFCIHCYHKFAHKPPISSA EMTFRRPAQAFPVSYSSGARRPSLD SMENQVSVDAFKILEDPKWEFFPRKNLVLGK TLGEGEFGRVVKATAFHLKGRAGYTTVAVKMLKENASP SELRDLLSEFNVLKQVNH PHVIKLYGACSQDGP LLLIVEYAKYGLRGLFRESRKVGP GYLGS GGSRNSSSLDH </pre>	<p>Пример аминокислотной последовательности протоонкогена <i>ret homo sapiens</i> (RET)</p> <p>Референс-последовательность NCBI: NM_020975.6</p>

Таблица 1: Описание конкретных последовательностей		
SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
	PDERALTMGDLISFAWQISQGMQYLAEMKLVHRDLAARNILVAEGRKMKISDFGLS RDVYEEDSYVKRSQGRI PVKWMAI ES LFDHIYTTQSDVWSFGVLLWEIVTLGGNPY PGIPPERLFLNLLKTGHRMERPDNCSEEMYRLMLQCWKQEPDKRPVFADI SKDLEKM MVKRRDYDLAASTP SDSLIYDDGLSEEETPLVDCNNA PLPRALPSTWIENKLYGM SDPNWPGESPVPLTRADGTNTGFPRYPNDSVYANWMLS P SAAKLMDFDS	
3	MAKATSGAAGLRLLLLLLLLLPLLGKVALGLYFSRDAYWEKLYVDQAAGTPLLYVHAL RDAPEEVP S FRLGQHLYGTYRTRLHENNWICIQEDTGLLYLNRS LDHSSWEKLSVR NRGFPLLTVYLKVFLSPTS LREGECQWPGCARVYFSFFNTSFPACSS LKPRELCFP ETRPSFRIENRPPGTFHQFRLLPVQFLCPNISVAYRLLLEGEGLPFRCAPDSLEVS TRWALDREQREKYELVAVCTVHAGAREEVMVFPFVTVYDEDDSAPTFPAGVDTAS AVVEFKRKEDTVVATLRVFDADVVPASGELVRRYTTSTLLPGDTWAQQTFRVEHWPN ETSVQANGS FVRATVHDYRLVLRNLSISENRTMQLAVLVNDSDFQGGPAGVLLH FNVSVLPVSLHLPSTYLSVSRARRFAQIGKVCVENCQAFSGINVOYKLSHSSGAN CSTLGVVTS AEDTSGILFVNDTKALRRPKCAELHYMVVATDQQT SRQAQAQLLVT EGSYVAEEAGCPLSCAVSKRRLECEECGGLGSP TGRCEWRQGDGKGITRNFSTCSP STKTCPDGHCDVVETQDINICPQDCLRGSIVGGHEPGEPRGIKAGYGTNCNCFPEEE KCFCEPEDIQDPLCDEL CRTVIAAAVLF SFIVSVLLSAFCIHCHYHKFAHKPPISSA EMTFRRPAQAFPVSYSSSGARRPSLD SMENQVSVDAFKILEDPKWEFPRKNLVLGK TLGEGEFGKVVKATAFHLKGRAGYTTVAVKMLKENASPS ELRDLLSEFNVLKQVNH PHVIKLYGACSDG P LLLI X EYAKYGS LRGF LRESR KVGPGYLGSGSRNSSSLDH PDERALTMGDLISFAWQISQGMQYLAEMKLVHRDLAARNILVAEGRKMKISDFGLS RDVYEEDSYVKRSQGRI PVKWMAI ES LFDHIYTTQSDVWSFGVLLWEIVTLGGNPY PGIPPERLFLNLLKTGHRMERPDNCSEEMYRLMLQCWKQEPDKRPVFADI SKDLEKM MVKRRDYDLAASTP SDSLIYDDGLSEEETPLVDCNNA PLPRALPSTWIENKLYGM SDPNWPGESPVPLTRADGTNTGFPRYPNDSVYANWMLS P SAAKLMDFDS	Пример аминокислотной последовательности белка RET с мутацией V804X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от валина или глутаминовой кислоты.
4	MAKATSGAAGLRLLLLLLLLLPLLGKVALGLYFSRDAYWEKLYVDQAAGTPLLYVHAL RDAPEEVP S FRLGQHLYGTYRTRLHENNWICIQEDTGLLYLNRS LDHSSWEKLSVR NRGFPLLTVYLKVFLSPTS LREGECQWPGCARVYFSFFNTSFPACSS LKPRELCFP ETRPSFRIENRPPGTFHQFRLLPVQFLCPNISVAYRLLLEGEGLPFRCAPDSLEVS TRWALDREQREKYELVAVCTVHAGAREEVMVFPFVTVYDEDDSAPTFPAGVDTAS AVVEFKRKEDTVVATLRVFDADVVPASGELVRRYTTSTLLPGDTWAQQTFRVEHWPN ETSVQANGS FVRATVHDYRLVLRNLSISENRTMQLAVLVNDSDFQGGPAGVLLH FNVSVLPVSLHLPSTYLSVSRARRFAQIGKVCVENCQAFSGINVOYKLSHSSGAN CSTLGVVTS AEDTSGILFVNDTKALRRPKCAELHYMVVATDQQT SRQAQAQLLVT EGSYVAEEAGCPLSCAVSKRRLECEECGGLGSP TGRCEWRQGDGKGITRNFSTCSP STKTCPDGHCDVVETQDINICPQDCLRGSIVGGHEPGEPRGIKAGYGTNCNCFPEEE KCFCEPEDIQDPLCDEL CRTVIAAAVLF SFIVSVLLSAFCIHCHYHKFAHKPPISSA EMTFRRPAQAFPVSYSSSGARRPSLD SMENQVSVDAFKILEDPKWEFPRKNLVLGK TLGEGEFGKVVKATAFHLKGRAGYTTVAVKMLKENASPS ELRDLLSEFNVLKQVNH PHVIKLYGACSDG P LLLI V E X AKYGS LRGF LRESR KVGPGYLGSGSRNSSSLDH PDERALTMGDLISFAWQISQGMQYLAEMKLVHRDLAARNILVAEGRKMKISDFGLS RDVYEEDSYVKRSQGRI PVKWMAI ES LFDHIYTTQSDVWSFGVLLWEIVTLGGNPY PGIPPERLFLNLLKTGHRMERPDNCSEEMYRLMLQCWKQEPDKRPVFADI SKDLEKM MVKRRDYDLAASTP SDSLIYDDGLSEEETPLVDCNNA PLPRALPSTWIENKLYGM SDPNWPGESPVPLTRADGTNTGFPRYPNDSVYANWMLS P SAAKLMDFDS	Пример аминокислотной последовательности белка RET с мутацией Y806X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от тирозина.
5	MAKATSGAAGLRLLLLLLLLLPLLGKVALGLYFSRDAYWEKLYVDQAAGTPLLYVHAL RDAPEEVP S FRLGQHLYGTYRTRLHENNWICIQEDTGLLYLNRS LDHSSWEKLSVR NRGFPLLTVYLKVFLSPTS LREGECQWPGCARVYFSFFNTSFPACSS LKPRELCFP ETRPSFRIENRPPGTFHQFRLLPVQFLCPNISVAYRLLLEGEGLPFRCAPDSLEVS TRWALDREQREKYELVAVCTVHAGAREEVMVFPFVTVYDEDDSAPTFPAGVDTAS AVVEFKRKEDTVVATLRVFDADVVPASGELVRRYTTSTLLPGDTWAQQTFRVEHWPN ETSVQANGS FVRATVHDYRLVLRNLSISENRTMQLAVLVNDSDFQGGPAGVLLH FNVSVLPVSLHLPSTYLSVSRARRFAQIGKVCVENCQAFSGINVOYKLSHSSGAN CSTLGVVTS AEDTSGILFVNDTKALRRPKCAELHYMVVATDQQT SRQAQAQLLVT EGSYVAEEAGCPLSCAVSKRRLECEECGGLGSP TGRCEWRQGDGKGITRNFSTCSP STKTCPDGHCDVVETQDINICPQDCLRGSIVGGHEPGEPRGIKAGYGTNCNCFPEEE KCFCEPEDIQDPLCDEL CRTVIAAAVLF SFIVSVLLSAFCIHCHYHKFAHKPPISSA EMTFRRPAQAFPVSYSSSGARRPSLD SMENQVSVDAFKILEDPKWEFPRKNLVLGK TLGEGEFGKVVKATAFHLKGRAGYTTVAVKMLKENASPS ELRDLLSEFNVLKQVNH PHVIKLYGACSDG P LLLI V E Y X KYGS LRGF LRESR KVGPGYLGSGSRNSSSLDH PDERALTMGDLISFAWQISQGMQYLAEMKLVHRDLAARNILVAEGRKMKISDFGLS RDVYEEDSYVKRSQGRI PVKWMAI ES LFDHIYTTQSDVWSFGVLLWEIVTLGGNPY PGIPPERLFLNLLKTGHRMERPDNCSEEMYRLMLQCWKQEPDKRPVFADI SKDLEKM MVKRRDYDLAASTP SDSLIYDDGLSEEETPLVDCNNA PLPRALPSTWIENKLYGM SDPNWPGESPVPLTRADGTNTGFPRYPNDSVYANWMLS P SAAKLMDFDS	Пример аминокислотной последовательности белка RET с мутацией A807X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от аланина.

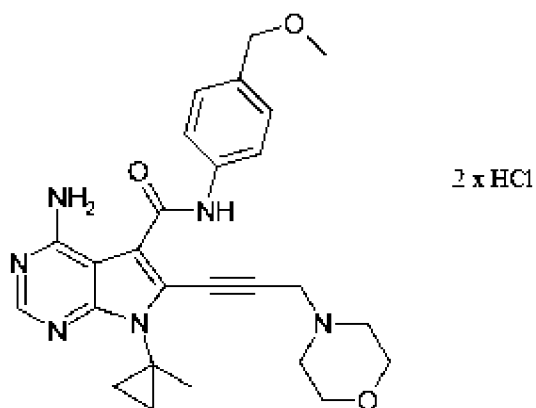
Таблица 1: Описание конкретных последовательностей		
SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
6	<p>MAKATSGAAGLRLLLLLLLLLPLLGKVALGLYFSRDAYWEKLYVDQAAGTPLLYVHAL RDAPEEVPFSFRLGQHLYGTYRTRLHENNWICIQEDTGLLYLNRSLDHSSWEKLSVR NRGFPLLTVYLVKVFSLPTSLEREGECQWPGCARVYFSFFNTSFPACSSSLKPRELCFP ETRPSFRIRENRPPGTFHQFRLLPVQFLCPNISVAYRLLLEGEGLPFRCAPDSLEVS TRWALDREQREKYELVAVCTVHAGAREEVVMVFPVTVYDEDDSAPTFPAGVDTAS AVVEFKRKEDTVVATLRVFDADVVPASGELVRRYTSTLLPGDTWAQQTFRVEHWPN ETSVQANGSFVRATVHDYRLVLRNRLSISENRTMQLAVLVNDSDFQGGPAGVLLH FNVSVLPVSLHLPSTYLSVSRARRRFAQIGKVCVENCQAFSGINVOYKLSHSSGAN CSTLGVVTS AEDTSGILFVNDTKALRRPKCAELHYMVVATDQQT SRQAQAQLLVTV EGSYVAEEAGCPLSCAVSKRRLECEECGGLGSP TGRCEWRQGDGKGITRNFSTCSP STKTCPDGHCDVVETQDINICPQDCLRGSIVGGHEPGEPRGIKAGYGT CNCFPEEE KCFCEPEDIQDPLCDEL CRTVIAAAVLFSFIVSVLLSAFCIHCHYHKFAHKPPISSA EMTFRRPAQAFPVSYS SSGARRPSLD SMENQVSVDAFKILEDPKWEFPRKNLVLGK TLGEGEFGKVVKATAFHLKGRAGYTTVAVKMLKENASPS ELRDLLSEFNVLKQVNH PHVIKLYGACSDG P LLLIVEYAYX YGSLRGFLRESRKVGP GYLGSGGSRNSSLDH PDERALTMGDLISFAWQISQGMQYLAEMKLVHRDLAARNILVAEGRKMKISDFGLS RDVYEEDSYVKRSQGRIPVKWMAIESLFDHIYTTQSDVWSFGVLLWEIVTLGGNPY PGIPPERLNFLLKTGHRMERPDNCSEEMYRLMLQCWKQEPDKRPV FADI SKDLEKM MVKRRDYLDLAASTP SDSLIYDDGLSEEETPLVDCNNA PLPRALPSTWIENKLYGM SDPNWPGESP VPLTRADGTNTGFPRYPNDSVYANWMLS PSAAKLMDTFDS</p>	<p>Пример аминокислотной последовательности белка RET с мутацией K808X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от лизина.</p>
7	<p>MAKATSGAAGLRLLLLLLLLLPLLGKVALGLYFSRDAYWEKLYVDQAAGTPLLYVHAL RDAPEEVPFSFRLGQHLYGTYRTRLHENNWICIQEDTGLLYLNRSLDHSSWEKLSVR NRGFPLLTVYLVKVFSLPTSLEREGECQWPGCARVYFSFFNTSFPACSSSLKPRELCFP ETRPSFRIRENRPPGTFHQFRLLPVQFLCPNISVAYRLLLEGEGLPFRCAPDSLEVS TRWALDREQREKYELVAVCTVHAGAREEVVMVFPVTVYDEDDSAPTFPAGVDTAS AVVEFKRKEDTVVATLRVFDADVVPASGELVRRYTSTLLPGDTWAQQTFRVEHWPN ETSVQANGSFVRATVHDYRLVLRNRLSISENRTMQLAVLVNDSDFQGGPAGVLLH FNVSVLPVSLHLPSTYLSVSRARRRFAQIGKVCVENCQAFSGINVOYKLSHSSGAN CSTLGVVTS AEDTSGILFVNDTKALRRPKCAELHYMVVATDQQT SRQAQAQLLVTV EGSYVAEEAGCPLSCAVSKRRLECEECGGLGSP TGRCEWRQGDGKGITRNFSTCSP STKTCPDGHCDVVETQDINICPQDCLRGSIVGGHEPGEPRGIKAGYGT CNCFPEEE KCFCEPEDIQDPLCDEL CRTVIAAAVLFSFIVSVLLSAFCIHCHYHKFAHKPPISSA EMTFRRPAQAFPVSYS SSGARRPSLD SMENQVSVDAFKILEDPKWEFPRKNLVLGK TLGEGEFGKVVKATAFHLKGRAGYTTVAVKMLKENASPS ELRDLLSEFNVLKQVNH PHVIKLYGACSDG P LLLIVEYAYX YGSLRGFLRESRKVGP GYLGSGGSRNSSLDH PDERALTMGDLISFAWQISQGMQYLAEMKLVHRDLAARNILVAEGRKMKISDFGLS RDVYEEDSYVKRSQGRIPVKWMAIESLFDHIYTTQSDVWSFGVLLWEIVTLGGNPY PGIPPERLNFLLKTGHRMERPDNCSEEMYRLMLQCWKQEPDKRPV FADI SKDLEKM MVKRRDYLDLAASTP SDSLIYDDGLSEEETPLVDCNNA PLPRALPSTWIENKLYGM SDPNWPGESP VPLTRADGTNTGFPRYPNDSVYANWMLS PSAAKLMDTFDS</p>	<p>Пример аминокислотной последовательности белка RET с мутацией Y809X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от тирозина.</p>
8	<p>MAKATSGAAGLRLLLLLLLLLPLLGKVALGLYFSRDAYWEKLYVDQAAGTPLLYVHAL RDAPEEVPFSFRLGQHLYGTYRTRLHENNWICIQEDTGLLYLNRSLDHSSWEKLSVR NRGFPLLTVYLVKVFSLPTSLEREGECQWPGCARVYFSFFNTSFPACSSSLKPRELCFP ETRPSFRIRENRPPGTFHQFRLLPVQFLCPNISVAYRLLLEGEGLPFRCAPDSLEVS TRWALDREQREKYELVAVCTVHAGAREEVVMVFPVTVYDEDDSAPTFPAGVDTAS AVVEFKRKEDTVVATLRVFDADVVPASGELVRRYTSTLLPGDTWAQQTFRVEHWPN ETSVQANGSFVRATVHDYRLVLRNRLSISENRTMQLAVLVNDSDFQGGPAGVLLH FNVSVLPVSLHLPSTYLSVSRARRRFAQIGKVCVENCQAFSGINVOYKLSHSSGAN CSTLGVVTS AEDTSGILFVNDTKALRRPKCAELHYMVVATDQQT SRQAQAQLLVTV EGSYVAEEAGCPLSCAVSKRRLECEECGGLGSP TGRCEWRQGDGKGITRNFSTCSP STKTCPDGHCDVVETQDINICPQDCLRGSIVGGHEPGEPRGIKAGYGT CNCFPEEE KCFCEPEDIQDPLCDEL CRTVIAAAVLFSFIVSVLLSAFCIHCHYHKFAHKPPISSA EMTFRRPAQAFPVSYS SSGARRPSLD SMENQVSVDAFKILEDPKWEFPRKNLVLGK TLGEGEFGKVVKATAFHLKGRAGYTTVAVKMLKENASPS ELRDLLSEFNVLKQVNH PHVIKLYGACSDG P LLLIVEYAYX XSLRGFLRESRKVGP GYLGSGGSRNSSLDH PDERALTMGDLISFAWQISQGMQYLAEMKLVHRDLAARNILVAEGRKMKISDFGLS RDVYEEDSYVKRSQGRIPVKWMAIESLFDHIYTTQSDVWSFGVLLWEIVTLGGNPY PGIPPERLNFLLKTGHRMERPDNCSEEMYRLMLQCWKQEPDKRPV FADI SKDLEKM MVKRRDYLDLAASTP SDSLIYDDGLSEEETPLVDCNNA PLPRALPSTWIENKLYGM SDPNWPGESP VPLTRADGTNTGFPRYPNDSVYANWMLS PSAAKLMDTFDS</p>	<p>Пример аминокислотной последовательности белка RET с мутацией G810X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от глицина.</p>

VI. Описание конкретных вариантов осуществления изобретения

В контексте настоящего описания обозначения «TAS0953/HM06» или «HM06/TAS0953», или «HM06» используют взаимозаменяемо, и они относятся к 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамиду в форме свободного основания, а также в форме любой его соли, включая дигидрохлорид, если не указано иное. Дигидрохлорид 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид обозначают также взаимозаменяемо как «TAS0953-01/HM06-01» или «HM06-01», или «HM06-01/TAS0953-01». HM06/TAS0953 в форме свободного основания имеет молекулярную формулу $C_{26}H_{30}N_6O_3$ и молекулярную массу 474,57. Структурная формулы свободного основания имеет следующий вид:



HM06-01/TAS0953-01 имеет молекулярную формулу $C_{26}H_{32}O_3N_6C_{12}$ и молекулярную массу 547,54. Химическая структура дигидрохлорида имеет следующий вид:



5 В некоторых вариантах осуществления изобретения форма свободного основания представляет собой активный фармацевтический ингредиент (API). В некоторых вариантах осуществления изобретения дигидрохлорид представляет собой активный фармацевтический ингредиент (API). В некоторых вариантах осуществления изобретения API представляет собой твердое вещество от белого до грязновато-беловатого цвета. В некоторых вариантах осуществления изобретения API легко растворим в воде.

 Дозируемая форма композиции, содержащей HM06/TAS0953, может представлять собой любую из оральных или парентеральных форм. На формы таких препаратов не накладываются конкретные ограничения, и их примеры включают: оральные композиции, такие как таблетка, таблетка с покрытием, пилюля, порошок, гранула, капсула, раствор, суспензия и эмульсии; парентеральные композиции, такие как предназначенная для инъекции форма, суппозитории и ингалятор; и т.д. Предназначенную для инъекции форму можно вводить внутривенно либо индивидуально, либо в смеси с общепринятым адьювантом, таким как глюкоза или аминокислота, или при необходимости вводить индивидуально внутриартериально, внутримышечно, внутрикожно, подкожно или внутрибрюшинно. Суппозиторий вводят интаректально.

 В некоторых вариантах осуществления изобретения HM06/TAS0953 получают в форме дигидрохлорида (HM06-01/TAS0953-01) и приготавливают препаративную форму в виде таблеток. В некоторых вариантах осуществления

изобретения таблетки предназначены для орального введения. В некоторых вариантах осуществления изобретения готовят таблетки, содержащие дозу примерно 10 или примерно 50 мг (в пересчете на свободное основание)/таблетку, или другую дозу, указанную в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления изобретения таблетки вводят орально, принимая либо одну таблетку, либо несколько таблеток.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит фармакопейные и широко применяемые эксципиенты. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит по меньшей мере один эксципиент. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит по меньшей мере один антиоксидант, по меньшей мере один наполнитель, по меньшей мере один разрыхлитель, по меньшей мере одно поверхностно-активное вещество и/или по меньшей мере один замасливатель. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция содержит лимонную кислоту, микрокристаллическую целлюлозу (например, Avicel PH200 LM), лактозу (например, лактозу 316 Fast Flo), поливинил-N-пирролидон (например, кросповидон (Crospovidone)), лаурилсульфат натрия и/или глицерилбегенат (например, Compritol ATO 888).

Как правило, больному человеку вводят композицию, содержащую HM06/TAS0953, в эффективной дозе. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят композицию, содержащую HM06/TAS0953, в суточной дозе HM06/TAS0953, эквивалентной от примерно 40 мг до примерно 3000 мг HM06/TAS0953 в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения больному человеку вводят композицию, содержащую HM06/TAS0953, в суточной дозе HM06/TAS0953, эквивалентной от примерно 40 мг до примерно 1000 мг HM06/TAS0953 в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения дозу HM06/TAS0953 вводят один раз в день (QD) или несколько раз в день (например, BID или TID). В некоторых вариантах осуществления изобретения вводимая дважды в день (BID) доза HM06/TAS0953 эквивалентна от примерно 20 мг до примерно 1500 мг HM06/TAS0953 в форме свободного основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения вводимая дважды в день (BID)

доза НМ06/TAS0953 эквивалентна от примерно 20 мг до примерно 500 мг НМ06/TAS0953 в форме свободного основания.

В некоторых вариантах осуществления изобретения вводимая суточная доза НМ06/TAS0953 эквивалентна от примерно 150 мг до примерно 640 мг

- 5 НМ06/TAS0953 в пересчете на свободное основание (например, от примерно 75 мг до примерно 320 мг НМ06/TAS0953 в форме свободного основания дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения вводимая суточная доза НМ06/TAS0953 эквивалентна от примерно 160 мг до примерно 640 мг
- 10 НМ06/TAS0953 в пересчете на свободное основание (например, от примерно 80 мг до примерно 320 мг НМ06/TAS0953 в форме свободного основания дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения вводимая суточная доза НМ06/TAS0953 эквивалентна от примерно 150 мг до примерно 500 мг
- 15 НМ06/TAS0953 в пересчете на свободное основание (например, от примерно 75 мг до примерно 250 мг НМ06/TAS0953 в форме свободного основания дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения вводимая суточная доза НМ06/TAS0953 эквивалентна от примерно 160 мг до примерно 500 мг
- 20 НМ06/TAS0953 в пересчете на свободное основание (например, от примерно 80 мг до примерно 250 мг НМ06/TAS0953 в форме свободного основания дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения вводимая суточная доза НМ06/TAS0953 эквивалентна от примерно 320 мг до примерно 640 мг
- 25 НМ06/TAS0953 в пересчете на свободное основание (например, от примерно 160 мг до примерно 320 мг НМ06/TAS0953 в форме свободного основания дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения вводимая суточная доза НМ06/TAS0953 эквивалентна от примерно 480 мг до примерно 640 мг
- 30 НМ06/TAS0953 в пересчете на свободное основание (например, от примерно 240 мг до примерно 320 мг НМ06/TAS0953 в форме свободного основания дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения вводимая суточная доза НМ06/TAS0953 эквивалентна от примерно 480 мг до примерно 3000 мг
- НМ06/TAS0953 в пересчете на свободное основание (например, от примерно 240 мг до примерно 1500 мг НМ06/TAS0953 в форме свободного основания дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения вводимая суточная доза НМ06/TAS0953 эквивалентна от примерно 480 мг до примерно 2000 мг
- НМ06/TAS0953 в пересчете на свободное основание (например, от примерно 240

мг до примерно 500 мг HM06/TAS0953 в форме свободного основания дважды в день).

В некоторых вариантах осуществления изобретения доза HM06/TAS0953 (в пересчете на свободное основание состояние) включает примерно 40 мг в день (например, примерно 20 мг дважды в день), примерно 60 мг в день (например, примерно 30 мг дважды в день), примерно 80 мг в день (например, примерно 40 мг дважды в день), примерно 100 мг в день (например, примерно 50 мг дважды в день), примерно 120 мг в день (например, примерно 60 мг дважды в день), примерно 140 мг в день (например, примерно 70 мг дважды в день), примерно 160 мг в день (например, примерно 80 мг дважды в день), примерно 180 мг в день (например, примерно 90 мг дважды в день), примерно 200 мг в день (например, примерно 100 мг дважды в день), примерно 220 мг в день (например, примерно 110 мг дважды в день), примерно 240 мг в день (например, примерно 120 мг дважды в день), примерно 260 мг в день (например, примерно 130 мг дважды в день), примерно 280 мг в день (например, примерно 140 мг дважды в день), примерно 300 мг в день (например, примерно 150 мг дважды в день), примерно 320 мг в день (например, примерно 160 мг дважды в день), примерно 340 мг в день (например, примерно 170 мг дважды в день), примерно 360 мг в день (например, примерно 180 мг дважды в день), примерно 380 мг в день (например, примерно 190 мг дважды в день), примерно 400 мг в день (например, примерно 200 мг дважды в день), примерно 420 мг в день (например, примерно 210 мг дважды в день), примерно 440 мг в день (например, примерно 220 мг дважды в день), примерно 460 мг в день (например, примерно 230 мг дважды в день), примерно 480 мг в день (например, примерно 240 мг дважды в день), примерно 500 мг в день (например, примерно 250 мг дважды в день), примерно 750 мг в день (например, примерно 375 мг дважды в день), примерно 1000 мг в день (например, примерно 500 мг дважды в день), примерно 1280 мг в день (например, примерно 640 мг дважды в день), примерно 1500 мг в день (например, примерно 750 мг дважды в день), примерно 2000 мг в день (например, примерно 1000 мг дважды в день), от примерно 3000 мг в день (например, примерно 1500 мг дважды в день).

В некоторых вариантах осуществления изобретения доза HM06/TAS0953 (в пересчете на свободное состояние) выше или равна примерно 40 мг в день

(например, ниже или составляет примерно 320 мг дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения доза НМ06/TAS0953 (в пересчете на свободное основание) ниже или составляет примерно 400 мг в день (например, ниже или составляет примерно 200 мг дважды в день).

5 В некоторых вариантах осуществления изобретения доза НМ06/TAS0953 (в пересчете на свободное основание) составляет примерно 150 мг в день (например, примерно 75 мг дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения доза НМ06/TAS0953 (в пересчете на свободное основание) составляет примерно 160 мг в день (например, примерно 80 мг
10 дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения доза НМ06/TAS0953 (в пересчете на свободное основание) составляет примерно 320 мг в день (например, примерно 160 мг дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения доза НМ06/TAS0953 (в пересчете на свободное основание) составляет примерно 640 мг в день (например, примерно 320 мг
15 дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения доза НМ06/TAS0953 (в пересчете на свободное основание) составляет примерно 1000 мг в день (например, примерно 500 мг дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения доза НМ06/TAS0953 (в пересчете на свободное основание) составляет примерно 1280 мг в день (например, примерно 640 мг
20 дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения доза НМ06/TAS0953 (в пересчете на свободное основание) составляет примерно 1500 мг в день (например, примерно 750 мг дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения доза НМ06/TAS0953 (в пересчете на свободное основание) составляет примерно 2000 мг в день (например, примерно 1000 мг
25 дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения доза НМ06/TAS0953 (в пересчете на свободное основание) составляет примерно 3000 мг в день (например, примерно 1500 мг дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения в процессе лечения дозу можно изменять.

В некоторых вариантах осуществления изобретения больной человек имеет
30 возраст 12 лет или старше. В некоторых вариантах осуществления изобретения больной человек возрастом 12 лет или старше имеет вес тела менее 50 кг. В некоторых вариантах осуществления изобретения пациенту весом более 50 кг и менее 50 кг вводят одинаковую дозу.

В некоторых вариантах осуществления изобретения для пациентов весом менее 50 кг доза НМ06/TAS0953 может быть ниже или составлять примерно 3000 мг в день (например, 1500 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 2000 мг в день (например, 1000 мг дважды в день), ниже или
5 составлять примерно 1500 мг в день (например, 750 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 1280 мг в день (например, 640 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 1000 мг в день (например, 500 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 640 мг в день (например, 320 мг дважды в день), ниже или
10 составлять примерно 320 мг в день (например, 160 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 160 мг в день (например, 80 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 120 мг в день (например, 60 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 80 мг в день (например, 40 мг дважды в день) или ниже или
15 составлять примерно 40 мг один раз в день. Для пациентов весом более 50 кг доза НМ06/TAS0953 может быть ниже или составлять примерно 3000 мг в день (например, 1500 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 2000 мг в
20 день (например, 1000 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 1500 мг в день (например, 750 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 1280 мг в день (например, 640 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 1000 мг в день (например, 500 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 640 мг
25 один раз в день (например, 320 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 480 мг в день (например, 240 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 320 мг в день (например, 160 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 240 мг в день (например, 120 мг дважды в день), ниже или составлять примерно 160 мг в день (например, 80 мг дважды в день) или ниже или
30 составлять примерно 80 мг в день (например, 40 мг дважды в день). В некоторых вариантах осуществления изобретения в процессе лечения дозу можно изменять.

В некоторых вариантах осуществления изобретения больной человек имеет или у него диагностирован рак слюнных желез, рак легкого, колоректальный рак, рак щитовидной железы, рак молочной железы, рак поджелудочной железы,
30 рак яичников, рак кожи и рак головного мозга. В некоторых вариантах осуществления изобретения больной человек имеет или у него диагностирован медуллярный или анапластический рак щитовидной железы, метастатический рак молочной железы или метастатическая аденокарцинома поджелудочной

железы. В некоторых вариантах осуществления изобретения больной человек имеет или у него диагностирован немелкоклеточный рак легкого (NSCLC).

Примеры NSCLC включают аденокарциномы и крупноклеточные карциномы (неплоскоклеточные карциномы), а также плоскоклеточные карциномы.

5 В некоторых вариантах осуществления изобретения больной человек имеет или у него диагностирован местнораспространенный или метастатический NSCLC.

В некоторых вариантах осуществления изобретения у больного человека первичная(ые) опухоль(и) могут давать метастазы в центральную нервную систему (ЦНС). Например, больной человек может иметь или у него могут быть
10 диагностированы первичная опухоль и метастазы в ЦНС. В некоторых вариантах осуществления изобретения больной человек может иметь или у него может быть диагностирован метастатический NSCLC с метастазами в головной мозг и/или лептоменингеальными метастазами.

В контексте настоящего описания понятие «метастазы в головной мозг и/или лептоменингеальные метастазы» относится также к метастазам в головной
15 мозг или к лептоменингеальному заболеванию, включая бессимптомное заболевание и имеющее симптомы заболевание, и оно может поддаваться или не поддаваться количественной оценке.

В контексте настоящего описания или если специально не указано иное,
20 понятие «RET» относится к гену, кодирующему белок RET, и/или к белку RET или мутации, варианту или фрагменту гена или белка RET.

В контексте настоящего описания понятие «белок RET» или «полипептид RET» относится к тирозинкиназному рецептору, кодируемому геном RET (который обозначают также как протоонкоген RET), и может содержать полный
25 белок RET или его фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления изобретения белок RET содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 или ее фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления изобретения белок RET представляет собой мутантный белок RET. В некоторых вариантах
30 осуществления изобретения белок RET содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 или SEQ ID NO: 8 или ее фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления изобретения белок RET кодируется геном RET с аномалией гена RET.

В контексте настоящего описания понятие «аномалия гена RET» относится к отличию мутантной последовательности гена RET от последовательности гена RET дикого типа. Например аномалия гена RET может представлять собой

5 хромосомную реаранжировку, точечную мутацию, увеличение количества копий, сверхэкспрессию и/или лиганд-индуцированную активацию.

Присутствие или отсутствие аномалии гена RET можно определять с помощью любого из целого ряда методов, известных в данной области, включая

10 (но не ограничиваясь только ими) секвенирование ДНК или РНК или FISH-анализ (см., например, Subbiah V. И др., *Ann Oncol.* 32(2), 2021, сс. 261-268; Lin J.J. и др., *Ann Oncol.* 31(12), 2020, сс. 1725-1733; Solomon B.J. и др., *J Thorac Oncol.* 15(4), 2020, сс. 541-549.) В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалию гена RET выявляют путем секвенирования

15 циркулирующей опухолевой ДНК. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалию гена RET выявляют путем целенаправленного секвенирования единичных ампликонов.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ген RET, содержащий аномалию гена RET, кодирует мутантный белок RET, такой как слитый белок

20 RET и/или белок RET, содержащий мутацию фронта растворения.

В некоторых вариантах осуществления изобретения рак или опухоль содержит аномалию гена RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения пациент имеет аномалию гена RET, выбранную из хромосомной реаранжировки (слияние гена RET), точечной мутации, увеличения количества

25 копий, сверхэкспрессии и/или лиганд-индуцированной активации. Сверхэкспрессия может являться результатом увеличения количества копий или повышающей регуляции транскрипции, что может приводить к увеличению локальной концентрации рецепторов и аномальной активации. Увеличение количества копий или сверхэкспрессия могут касаться как RET дикого типа, так

30 и мутантного RET. Например, сверхэкспрессия мутантного RET обнаружена в MEN2-ассоциированных опухолях. Стабильная сверхэкспрессия как мутанта M918T, так и RET дикого типа обнаружена в двух линиях SCLC-клеток. Лиганд-индуцированная активация RET может приводить к стимуляции множества

путей трансдукции сигналов, включая пути MAP-киназы/Erk и PI3-киназы/Akt. Указанная активация может встречаться как в RET дикого типа, так и в мутантном RET.

5 В некоторых вариантах осуществления изобретения слияние гена RET встречается при NSCLC, папиллярной карциноме щитовидной железы (PTC), колоректальном раке (слияние CCDC6–RET) или раке молочной железы (слияние ERC1–RET). В некоторых вариантах осуществления изобретения точечная мутация гена RET встречается при медуллярной карциноме щитовидной железы (MTC), включая множественную эндокринную неоплазию 10 2A (MEN2A), MEN2B или семейную медуллярную карциному щитовидной железы (FMTC). В некоторых вариантах осуществления изобретения увеличение количества копий RET встречается при NSCLC, раке молочной железы, раке поджелудочной железы или глиобластоме.

15 В некоторых вариантах осуществления изобретения рак или опухоль содержит слияние C-концевого киназного домена RET с N-концевыми последовательностями члена семейства кинезинов 5B (KIF5B-RET), CCDC6–RET (RET–PTC1), NCOA4–RET (RET–PTC3) или TRIM33–RET (RET–PTC7). Слияния генов KIF5B–RET могут приводить к повышению транскрипции RET в 2-30 раз, что позволяет предположить, что в этих случаях киназная активность 20 RET стимулирует онкогенез. В некоторых вариантах осуществления изобретения слияние RET представляет собой слияние RET с PRKAR1A, TRIM24, GOLGA5, KTN1, MBD1 или TRIM27. В некоторых вариантах осуществления изобретения слияние RET представляет собой слияние RET с TRIM33, KIF5B, CCDC6 или KIF5B.

25 В некоторых вариантах осуществления изобретения у больного человека отсутствуют мутации, активирующие EGFR, KRAS, ALK, HER2, ROS1, BRAF, и/или METex14. Слияния RET при NSCLC в подавляющем большинстве случаев являются взаимоисключающими с мутациями в EGFR, KRAS, ALK, HER2 и BRAF.

30 Мультикиназные ингибиторы (MKI), обладающие активностью в отношении рецепторной тирозинкиназы (RTK) RET, включают кабозантиниб, вандетаниб, алектипиб, сунитиниб, сорафениб, пазопаниб, понатиниб, регорафениб, апатиниб, ситраватиниб, RXDX-105 и ленватиниб. В некоторых

вариантах осуществления изобретения больного человека ранее лечили кабозантинибом, вандетанибом, ленватинибом RDX-105 или другим мультикиназным ингибитором. В некоторых вариантах осуществления изобретения у больного человек после предшествующего лечения обнаружено прогрессирующее заболевание. В некоторых вариантах осуществления изобретения у больного человека развилась непереносимость предшествующего лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения больного человека ранее не лечили с помощью мультикиназного ингибитора.

В некоторых вариантах осуществления изобретения больного человека ранее лечили селперкатинибом (LOXO-292), пралсетинибом (BLU-667), BOS-172738 или другим селективным ингибитором RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения у больного человек после предшествующего лечения обнаружено прогрессирующее заболевание. В некоторых вариантах осуществления изобретения у больного человека развилась непереносимость предшествующего лечения. В некоторых вариантах осуществления изобретения больного человека ранее не лечили с помощью селективного ингибитора RET.

Несмотря на клиническое улучшение, наблюдаемое при применении таргетных препаратов, у пациентов с аномалиями RET часто возникают рецидивы. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак или опухоль имеет и у него/нее возникла обуславливающая устойчивость мутация. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак или опухоль обладает устойчивостью к одному или нескольким мультикиназным ингибиторам. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак или опухоль обладает устойчивостью к одному или нескольким селективным ингибиторам RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак или опухоль обладает устойчивостью к селперкатинибу и/или пралсетинибу. В некоторых вариантах осуществления изобретения рак или опухоль содержит клетки, устойчивые к селперкатинибу и/или пралсетинибу.

В некоторых вариантах осуществления изобретения HM06/TAS0953 обладает эффективностью в отношении лечения рака или опухоли, которой/которая имеет и у него/нее возникла обуславливающая устойчивость мутация белка RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации фронта растворения белка RET и/или

мутации шарнирной области белка RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации фронта растворения белка RET.

5 В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET в аминокислотном остатке 730, 736, 760, 772, 804, 806, 807, 808, 809, 810 и/или 883. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET в аминокислотном остатке 804, 806, 807, 808, 809 и/или 810. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации
10 белка RET в аминокислотном остатке 810.

В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET, которая представляет собой а) мутацию V804X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от валина или глутаминовой кислоты; б) мутацию Y806X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную
15 от тирозина; в) мутацию A807X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от аланина; г) мутацию K808X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от аланина; д) мутацию Y809X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от тирозина; и/или е) мутацию G810X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от глицина.

20 В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET, которая представляет собой мутацию V804X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от валина или глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET, которая представляет собой мутацию V806X,
25 где X обозначает любую аминокислоту, отличную от тирозина. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET, которая представляет собой мутацию A807X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от аланина. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET,
30 которая представляет собой мутацию K808X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от аланина. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET, которая представляет собой мутацию Y809X, где X обозначает любую аминокислоту,

отличную от тирозина. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET, которая представляет собой мутацию G810X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от глицина.

В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET, включающей: а) мутацию V804L или V804M; б) мутацию Y806C, Y806S, Y806H или Y806N; и/или в) мутацию G810R, G810S, G810C, G810V, G810D или G810A. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации V804L или V804M белка RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации Y806C, Y806S, Y806H или Y806N белка RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации G810R, G810S, G810C, G810V, G810D или G810A белка RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации G810R белка RET.

В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации белка RET, включающей а) мутацию L730Q или L730R; б) мутацию G736A; в) мутацию L760Q; г) мутацию L772M; и/или д) мутацию A883V. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации L730W или L730R белка RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации G736A белка RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации L760Q белка RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации L772M белка RET. В некоторых вариантах осуществления изобретения аномалия гена RET приводит к мутации A883V белка RET.

VII. Примеры

Пример 1. Способность NM06/TAS0953 к миграции в головной мозг

В первом исследовании оценивали способность NM06/TAS0953 мигрировать через гематоэнцефалический барьер. NM06/TAS0953 растворяли в 0,5% гидроксипропилметилцеллюлозе (HPMC), содержащей 0,1н. соляную кислоту, и вводили орально в виде однократной дозы мышам линии BALB/cAJcl-nu/nu (фирма CLEA Japan, Inc.), которым подкожно имплантировали клетки линии BaF3/KIF5B-RET_RFP (т.е. линии клеток, содержащих слияние KIF5B-

RET). Через 1 ч после введения собирали кровь из нижней полой вены под анестезией изофураном и после этого удаляли целиком головной мозг. Образец крови центрифугировали для получения образца плазмы. Головной мозг гомогенизировали с 3-кратным количеством воды с помощью ультразвукового гомогенизатора с получением гомогената головного мозга.

Концентрацию соединения NM06/TAS0953 в плазме и в гомогенате головного мозга измеряли с помощью ЖХ-МС/МС и концентрацию соединения в гомогенате головного мозга умножали на коэффициент 4 для расчета концентрации в головном мозге (см. таблицу 2, ниже). Величину K_p ($K_p =$ концентрация соединения в гомогенате головного мозга/концентрация соединения в плазме) рассчитывали на основе отношения концентраций соединения в головном мозге/плазме. Рассчитывали концентрации несвязанного соединения в плазме и головном мозге на основе доли несвязанного белка в плазме и доли несвязанного белка в головном мозге, и рассчитывали величину $K_{p,uu}$ на основе отношения концентраций несвязанного соединения в головном мозге/плазме. Способность к миграции в головной мозг оценивали на основе рассчитанных величин K_p и $K_{p,uu}$. Соединение, для которого величина K_p составляла 0,1 или более, рассматривали как обладающее способностью к миграции в головной мозг, а соединение, для которого величина $K_{p,uu}$ составляла 0,3 или более, рассматривали как обладающее очень высокой способностью к миграции в головной мозг (Varadharajan S. и др., J Pharm Sci., 104, 2015, сс. 1197-1206).

Таблица 2 – Проникновение в головной мозг

Время (ч)	Мышь №	Концентрация (мкМ или нмоли/г)		$K_{p, \text{гол. мозг}}$	Концентрация несвязанного соединения (мкМ или нмоли/г)		$K_{p,uu, \text{гол. мозг}}$
		Плазма	Головной мозг		Плазма	Головной мозг	
1	1	29,3	55,0	1,88	2,16	4,29	1,98
	2	19,6	29,9	1,53	1,45	2,33	1,61
	Среднее значение			1,71			1,80

$K_{p, \text{гол. мозг}}$ = Отношение концентраций в головном мозге и плазме ($C_{\text{гол. мозг}}/C_{\text{плазма}}$)

$K_{p,uu, \text{гол. мозг}}$ = Отношение концентраций несвязанного соединения в головном мозге и плазме ($(C_{\text{гол. мозг}} \times f_{u, \text{гол. мозг}})/(C_{\text{плазма}} \times f_{u, \text{плазма}})$)

$f_{u, \text{плазма}}$ (мышь): 0,074

$f_{u, \text{гол. мозг}}$ (мышь): 0,078

HM06/TAS0953 характеризовалось высокой величиной Кр и высокой величиной Кр,иц, что свидетельствует об очень высокой способности к миграции в головной мозг. Эти данные позволяют предположить, что HM06/TAS0953 может обладать эффективностью в отношении лечения метастатического повреждения головного мозга или других заболеваний ЦНС.

Пример 2. HM06/TAS0953 обладает высокой эффективностью на модели метастазов в головной мозг

Эффективность HM06/TAS0953 при лечении опухолей с аномалией RET тестировали на модели метастазов в головной мозг, содержащих слияние KIF5B-RET. Продемонстрировано сильное и стабильное действие HM06/TAS0953.

Для создания этой модели клетки NIH3T3, содержащие слияние KIF5B-RET Luc ($2,5 \times 10^5$ клеток/мышь), имплантировали в головной мозг бестимусных голых мышей (фирма Charles River Laboratories Japan) на глубину 3 мм в положение, находящееся на 3 мм спереди и на 2 мм справа сбоку от ламбды.

Через шесть дней после имплантации мышам инъецировали внутривенно люциферин (фирма FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation) и измеряли люминесценцию от мышей с помощью системы визуализации *in vivo* (Lumina II, фирма PerkinElmer). С помощью программного обеспечения Living Image (фирма PerkinElmer) определяли количественно общий поток (количество фотонов/с) в представляющей интерес области спины и боковой области мыши соответственно и общее количество фотонов, полученное путем сложения величин обоих общих потоков, использовали в качестве люминесцентного сигнала. Мышей случайным образом разделяли на три группы по десять мышей для выравнивания среднего общего количества фотонов, полученного для каждой группы, и затем орально вводили наполнитель (0,5% гидроксипропилметилцеллюлоза, содержащая 0,1 моля/л соляной кислоты) или TAS0953 (12,5 мг/кг или 50 мг/кг) два раза в день (b.i.d.), начиная со дня 7. Люминесцентные сигналы от мышей измеряли один раз в неделю вплоть до окончания исследования.

Установлено, что HM06/TAS0953 обладал сильным и стабильным действием. На фиг. 1А представлены данные о противоопухолевой эффективности HM06/TAS0953 в сравнении с используемым в качестве контроля наполнителем при введении в дозе 50 мг/кг BID. На фиг. 1Б представлено

изменение веса тела в процентах и продемонстрировано, что мыши, которых обрабатывали HM06/TAS0953, хорошо переносили соединение в протестированных дозах, в то время как в обработанной наполнителем контрольной группе имела место гибель животных, обусловленная опухолевой нагрузкой, и прекращение прироста веса тела. На фиг. 1В продемонстрировано, что коэффициент выживаемости в обработанной HM06/TAS0953 группе был более высоким, чем в обработанной наполнителем контрольной группе. На фиг. 1Г представлены полученные с помощью системы визуализации *in vivo* (IVIS) изображения и картина патологии в головном мозге мышей, обработанных соединением, в сравнении с обработанным наполнителем контролем.

Эти данные свидетельствуют о том, что HM06/TAS0953 может оказывать сильное противоопухолевое действие при метастазах в головной мозг у пациентов с аномалиями RET и демонстрируют, что имеет место пролонгированный период выживаемости. Эти данные демонстрируют также, что HM06/TAS0953 обладает хорошей способностью к проникновению в головной мозг мышей.

Пример 3. HM06/TAS0953 обладает эффективностью на модели рефрактерной к вандетанибу опухоли

Оценивали воздействие HM06/TAS0953 при его применении после обработки вандетанибом по сравнению с непрерывной обработкой вандетанибом для определения того, оказывает ли переключение на HM06/TAS0953 существенное влияние на размер опухоли. Результаты позволяют предположить, что HM06/TAS0953 может обладать эффективностью в отношении рефрактерных опухолей.

Клеточную линию мышинных фибробластов, трансфектированную слитой киназой KIF5B-RET (NIN3T3 KIF5B-RET), трансплантировали из расчета 5×10^6 клеток/мышь в правую область грудной клетки самцам мышей BALB/cA Jcl-nu 6-недельного возраста. После трансплантации опухоли с помощью штангенциркуля измеряли большую ось (мм) и малую ось (мм) опухоли для расчета объема опухоли (TV) в соответствии с приведенной ниже формулой (A). Затем мышей разделяли на различные группы таким образом, чтобы средние величины TV в различных группах были одинаковыми. День, в который проводили деление на группы ($n = 5$ -6/группу), обозначали как день 1.

Вандетаниб вводили орально в дозе 100 мг/кг/день каждый день до того момента, когда средний объем опухоли у обрабатываемых вандетанибом мышей начинал превышать более чем в три раза средний объем опухоли в день 1. В день 16 группы, которые обрабатывали вандетанибом, подразделяли на две группы:
5 группа 1: группа, которую непрерывно обрабатывали вандетанибом; группа 2: группа, которую обрабатывали HM06/TAS0953. В группе, которую обрабатывали HM06/TAS0953, HM06/TAS0953 вводили орально в дозе 100 мг/кг/день (50 мг/кг, BID) каждый день после переключения с вандетаниба на HM06/TAS0953.

10 В качестве показателя противоопухолевого действия в каждой группе измеряли TV в день 31 и рассчитывали относительный объем опухоли (RTV) по сравнению с днем 1 согласно приведенной ниже формуле (Б) для оценки противоопухолевого действия.

Результаты представлены на фиг. 2, где символ * обозначает
15 статистическое различие между группой, обработанной HM06/TAS0953, и группой, которую непрерывно обрабатывали вандетанибом.

$$(A): TV (\text{мм}^3) = (\text{большая ось} \times \text{малая ось}^2)/2$$

$$(B): RTV = (TV \text{ в день } n)/(TV \text{ в день } 1)$$

n: указанный день измерения

20 Средняя величина RTV в группе, обработанной HM06/TAS0953, была статистически значимо меньше (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$) средней величины RTV в группе, которую непрерывно обрабатывали вандетанибом. Эти данные продемонстрировали эффективность HM06/TAS0953 в отношении рефрактерной к вандетанибу опухоли.

25 Пример 4. Доклиническая оценка HM06/TAS0953 на линиях клеток рака легкого, обусловленного реаранжировками RET

Далее исследовали эффективность HM06/TAS0953 в отношении ингибирования роста позитивных по RET-слиянию линий клеток в сравнении с
30 тремя мультикиназными ингибиторами RET (кабозантиниб, RDX-105 и вандетаниб). Эффективность HM06/TAS0953 исследовали на двух линиях клеток, полученных из образцов, не подвергавшихся обработке. Одну из клеточных линий получали из образца, взятого у пациента, который никогда не подвергался противораковой терапии и который имел слияние KIF5B-RET.

Обработка НМ06/TAS0953 ингибировала рост клеток, при этом величина IC_{50} составляла 0,03мкМ (фиг. 3А). Это означает, что соединение было в 7-24 раз более эффективным, чем мультикиназные ингибиторы кабозантиниб, RXDX-105 и вандетаниб.

5 НМ06/TAS0953 тестировали также на изогенной паре линий клеток для исследования эффективности в отношении содержащей слияние CCDC6-RET линии клеток и неспецифических воздействий на неонкогенную контрольную линию клеток. НМ06/TAS0953 ингибировало рост содержащей слияние CCDC6-RET линии клеток, при этом величина IC_{50} составляла 0,1мкМ (фиг. 3Б).

10 Изогенная копия этой линии клеток, которая экспрессировала «пустую» контрольную плазмиду, оказалась намного менее чувствительной к НМ06/TAS0953 (в 17 раз менее чувствительной) (фиг. 3В). Содержащие слияние CCDC6-RET линии клеток обладали одинаковой чувствительностью к кабозантинибу, RXDX-105 и вандетанибу.

15 НМ06/TAS0953 тестировали на линии клеток, содержащей слияние TRIM33-RET. НМ06/TAS0953 ингибировало рост клеток, при этом величина IC_{50} составляла 0,006мкМ, что в 8-20 раз меньше величины IC_{50} , характеризующей ингибирование роста тремя мультикиназными ингибиторами RET (фиг. 3Г).

20 Ингибирующие действия НМ06/TAS0953 изучали на линиях клеток, позитивных по слиянию RET, которые были устойчивыми к мультикиназным ингибиторам RET. Соединение НМ06/TAS0953 ингибировало рост линии клеток, полученных из образца, взятого у пациента, устойчивого к кабозантинибу (слияние CCDC6-RET), при этом величина IC_{50} составляла 0,06мкМ. Эта величина в 11,5 раз меньше величины IC_{50} , характеризующей ингибирование роста указанных клеток кабозантинибом. НМ06/TAS0953 обладало также более сильной ингибирующей способностью в отношении роста устойчивых к кабозантинибу клеток по сравнению с RXDX-105 и вандетанибом (фиг. 3Д).

25 НМ06/TAS0953 ингибировало рост линии клеток, полученных из образца, взятого у пациента с приобретенной устойчивостью к RXDX-105 (слияние KIF5B-RET), при этом величина IC_{50} составляла 0,07мкМ (фиг. 3Е). Эта величина значительно ниже величины IC_{50} , характеризующей ингибирование роста указанных клеток кабозантинибом (0,34мкМ, 95% CI: 0,21-0,54), RXDX-

105 (0,49мкМ, 95% CI: 0,31-0,76) или вандетанибом (0,38мкМ, 95% CI: 0,29-0,49).

Результаты позволяют предположить, что HM06/TAS0953 обладает большей эффективностью, чем другие мультикиназные ингибиторы RET в отношении ингибирования роста линий клеток, содержащих слияния RET. Результаты подтверждают, что HM06/TAS0953 обладает эффективностью в отношении линий клеток, рефрактерных к ингибирующему действию мультикиназных ингибиторов RET. Кроме того, HM06/TAS0953 обладало эффективностью в отношении линий клеток, содержащих слияния RET, в которых N-конец слит с тремя различными партнерами (CCDC6, KIF5B и TRIM33).

Пример 5. Оценка эффективности HM06/TAS0953 в доклинических исследованиях на созданных на животных моделях рака легкого, связанного с реаранжировками RET

Подтверждали эффективность HM06/TAS0953 в отношении снижения роста ксенотрансплантата опухолей и дополнительно изучали эффективность в сравнении с вандетанибом, известным мультикиназным ингибитором, обладающим анти-RET активностью. Эффективность изучали в доклинических исследованиях на созданных на животных моделях позитивных по слиянию RET видов рака, чувствительных к ингибиторам RET, путем имплантации либо изогенных (NIH-3T3-CCDC6-RET), либо полученных из организма пациента клеток (слияние TRIM33-RET) мышам с ослабленным иммунитетом для создания ксенотрансплантатов опухолей (примеры 5А и 5Б). Кроме того, эффективность изучали на нескольких моделях ксенотрансплантатов, полученных из организма пациентов (PDX), которые создавали из образцов, взятых у пациентов, у которых развилась устойчивость либо к RXDX-105, либо к кабозантину (пример 5В). Как подробно изложено ниже, на всех моделях HM06/TAS0953 либо превосходило вандетаниб по эффективности ингибирования роста опухоли, либо оказалось столь же эффективно, а в некоторых случаях оно индуцировало регресс опухоли. Обработка мышей с ксенотрансплантатом RET-зависимых опухолей HM06/TAS0953 приводила к значительному снижению роста опухоли уже при дозе всего лишь 12,5 мг/кг BID. При дозах 50 мг/кг BID или 100 мг/кг QD обнаружено значительное

снижение роста опухоли, включая приблизительно 100%-ный регресс ксенотрансплантатов опухолей, содержащих слияние TRIM33-RET.

Аналогичным образом, обработка HM06/TAS0953 в дозе 50 мг/кг BID или 100 мг/кг QD существенно снижала рост устойчивых к кабозантинibu PDX-

5 опухолей, что приводило примерно к 50%-ному регрессу опухоли. Обработка HM06/TAS0953 также приводила к значительному снижению роста двух PDX-моделей, созданных из опухолей, устойчивых к RXDX-105. У мышей, которых обрабатывали вандетанибом, обнаружена значительная потеря веса тела, в то время как мыши, которых обрабатывали HM06/TAS0953, хорошо переносили
10 соединение во всех дозах, протестированных в этом исследовании.

Влияние HM06/TAS0953 на рост ксенотрансплантированных опухолей дополнительно изучали в доклинических исследованиях на ортотопической модели опухоли головного мозга (слияние TRIM33-RET) (пример 5Г). Обработка HM06/TAS0953 в дозе 50 мг/кг BID полностью блокировала рост опухолей в
15 головном мозге и приводила к значительному увеличению выживаемости мышей, несущих опухоль. Результаты позволяют предположить, что HM06/TAS0953 является эффективным ингибитором RET, который может блокировать рост позитивных по слиянию RET ксенотрансплантатов опухолей, имплантированных подкожно в боковые области или в головной мозг мышей.

20 Методы: Самок мышей NSG (NOD/SCID гамма) (фирма Envigo, Мэдисон, шт. Висконсин) 6-недельного возраста использовали для создания PDX-моделей и для всех исследований эффективности, за исключением исследований ксенотрансплантата NIH-3T3, в которых применяли бестимусных голых мышей (фирма Envigo, Мэдисон, шт. Висконсин). После обнаружения устойчивого
25 сигнала мышей случайным образом разделяли на группы по 5 мышей, и через 22 дня после имплантации клеток начинали обработку с использованием наполнителя или HM06/TAS0953 в дозе 50 мг/кг BID. Люциферазный сигнал регистрировали еженедельно, и животных взвешивали дважды в неделю. Мышей умерщвляли при обнаружении таких признаков болезни, как нарушение
30 координации движений или чрезмерная потеря веса и усталость. В группе, которую подвергали обработке ингибитором, одно животное было обнаружено мертвым в начале исследования, и поэтому группа обработки сократилась всего до 4 животных.

Наполнители и соединения: Кабозантиниб перемешивали в 30% пропиленгликоля, 5% Твин 80, 65% D5W (5% декстрозы в воде) до образования суспензии. Вандетаниб перемешивали в 1%-ной карбоксиметилцеллюлозы натрия (СМС-Na) до образования суспензии. HM06/TAS0953 перемешивали с 0,1н. HCl и 0,5% гипромеллозы (HPMC) до образования суспензии. RXDX-105 перемешивали с 15% каптизола до образования суспензии. NIH-3T3-модель, содержащую слияние TRIM33-RET модель, PDX-модель, созданную из образца, взятого у пациента, у которого выработалась устойчивость к RXDX-105 (CCDC6-RET), и модель, созданную из образца, взятого у пациента с устойчивостью к кабозантинибу (CCDC6-RET), обрабатывали HM06/TAS0953 в форме свободного основания. Все другие модели обрабатывали HM06 в форме дигидрохлорида.

Статистический анализ: Наборы данных сравнивали с помощью двустороннего дисперсионного анализа с использованием критериев для множественных сравнений Тьюки или Сидака для определения уровня значимости. При $p < 0,05$ разницу между двумя величинами или наборами данных рассматривали как статистически значимую. Кривые выживаемости сравнивали с использованием Log-рангового критерия (Мантеля-Кокса). Определение 95%-ного доверительного интервала и все статистические анализы проводили с использованием программного обеспечения Graphpad Prism v7.

Пример 5А: HM06/TAS0953 обладает эффективностью в отношении ингибирования роста чувствительных к ингибитору RET ксенотрансплантатов опухолей

Исследовали способность HM06/TAS0953 ингибировать рост ксенотрансплантатов опухолей, полученных из клеток, которые никогда не подвергались обработке ингибитором RET. Клетки NIH-3T3, стабильно экспрессирующие слитый белок CCDC6-RET, имплантировали подкожно в боковую область бестимусных голых мышей. Когда объем опухолей достигал приблизительно 100 мм^3 , мышей случайным образом разделяли на группы по 5 животных и начинали обработку (день 6). Линию клеток NIH-3T3-CCDC6-RET получали путем стабильной экспрессии кДНК слияния CCDC6-RET. Бестимусных голых мышей с иммунодефицитом, несущих ксенотрансплантаты опухолей NIH-3T3-CCDC6-RET, обрабатывали 12,5-100 мг/кг HM06/TAS0953

либо один раз в день (QD), либо дважды в день (BID). Для сравнения применяли вандетаниб (100 мг/кг QD).

Обработка HM06/TAS0953 во всех протестированных дозах приводила к значимому снижению роста опухоли (фиг. 4А и 4Б). Обработка вандетанибом также приводила к значимому снижению объема опухоли по сравнению с обработанной наполнителем группой. Однако HM06/TAS0953 оказалось более эффективным, чем вандетаниб, при введении в дозах 50 мг/кг BID или 100 мг/кг QD. В этих экспериментах применяли намного более высокую дозу вандетаниба (100 мг/кг), чем та, которая, как было установлено, ингибировала рост связанной с RET-слиянием опухоли (50 мг/кг, QD) (Suzuki M. и др., Cancer Sci, 104(7), .2013, сс. 896-903, doi 10.1111/cas.12175). Эти результаты позволяют предположить, что соединение HM06/TAS0953 является более эффективным, чем вандетаниб, в отношении снижения роста связанных с RET-слиянием опухолей. Не выявлено значимого снижения веса тела животных при всех применяемых дозах HM06/TAS0953 (фиг. 4В).

Пример 5Б: HM06/TAS0953 обладает эффективностью в отношении ингибирования роста ксенотрансплантатов полученной из организма пациента клеточной линии, зависящей от слияния RET

Для расширенного исследования эффективности применяли модель с использованием ксенотрансплантата клеточной линии, полученной из организма пациента. Ксенотрансплантаты опухолей, несущих слияние TRIM33-RET, имплантировали подкожно в боковую область мышей линии NSG. Когда объем опухолей достигал примерно 100 мм³, мышей случайным образом разделяли на группы по 5 животных и начинали обработку (день 22) (Somwar R. и др., J Clin Oncol. 2016, 34(15_suppl):9068).

Обработка HM06/TAS0953 вызывала значимое снижение роста опухоли при 3 различных протестированных дозах (фиг. 5А). Во всех группах происходил регресс каждого трансплантата опухоли. Опухоли сокращались на $60,7 \pm 5\%$ при обработке HM06/TAS0953 в дозе 50 мг/кг один раз в день (фиг. 5Б). При обработке мышей 50 мг/кг BID не оставалось пальпируемых опухолей, а при обработке животных HM06/TAS0953 в дозе 100 мг/кг QD имело место снижение на $90 \pm 4\%$ роста опухолей (фиг. 5Б). Не выявлено значимого изменения веса животных при сравнении исходного и конечного веса тела животного в любой из

обработанных HM06 групп. Хотя обработка вандетанибом приводила к полному регрессу опухоли, у животных имела место значимая потеря веса, и в день 47 всех животных в этой группе пришлось умертвить (фиг. 5B). Каждое животное в обработанной вандетанибом группе начинало терять вес на третий день после начала обработки.

Пример 5B: HM06/TAS0953 обладает эффективностью в отношении ингибирования роста PDX-опухолей, рефрактерных к мультитикиназным ингибиторам RET

Для дополнительного исследования эффективности HM06/TAS0953 в отношении ингибирования роста опухоли проводили изучение эффективности ингибитора в отношении роста опухолей на трех PDX-моделях, устойчивых к RXDX-105, и одной модели, устойчивой к кабозантинибу.

PDX-опухоли, полученные из образцов опухолей, взятых у пациента, который не давал более ответа на кабозантиниб (CCDC6-RET), измельчали, смешивали с матригелем и затем имплантировали подкожно в боковую область NSG-мышей. Когда объем опухолей достигал примерно 100 мм³, мышей случайным образом разделяли на группы по 8 животных и начинали обработку (день 12). Обработка мышей, несущих опухоль, вандетанибом вызывала значимое снижение роста опухоли (фиг. 6A), при этом в конце исследования не оставалось пальпируемых опухолей (фиг. 6B). Все опухоли в группе сокращались на 100%. Однако у животных выявлена значимая потеря веса (фиг. 6B). Хотя обработка кабозантинибом (30 мг/кг QD) значимо снижала рост опухоли по сравнению с обработанной наполнителем группой ($p < 0,05$), не выявлено сокращения опухолей, при этом имел место некоторый рост всех опухолей в группе (фиг. 6B). Обработка HM06/TAS0953 в дозе 50 мг/кг BID или 100 мг/кг QD вызывала значимое снижение роста опухолей (фиг. 6A), при этом сокращение опухолей составляло $43,7 \pm 3,8\%$ и $47,7 \pm 0,9\%$ соответственно. В день 25 одно животное в группе, которую обрабатывали HM06 в дозе 50 мг/кг BID, было обнаружено мертвым и поэтому в этой группе до конца эксперимента присутствовали только 7 животных. Причина смерти животного осталась невыясненной.

PDX-опухоль, полученную из организма пациента, который обладал устойчивостью к лечению RXDX-105 во время сбора образцов опухоли (CCDC6-

RET), измельчали, смешивали с матригелем и затем имплантировали подкожно в боковую область NSG-мышей. Когда объем опухолей достигал примерно 100 мм³, мышей случайным образом разделяли на группы по 5 животных и начинали обработку (день 14). Обработка RXDX-105 (30 мг/кг BID) не вызывала

5 значимого изменения объема опухоли ($p > 0,05$) по сравнению с обработанной наполнителем группой, что свидетельствовало об устойчивости модели к RXDX-105 (фиг. 7А). Обработка вандетанибом (50 мг/кг QD) вызывала значимое снижение объема опухоли, при этом сокращение опухолей составляло $27,2 \pm 5,2\%$ ($p < 0,05$) (фиг. 7А и 7Б). В этом исследовании и всех последующих

10 исследованиях применяли вандетаниб в дозе 50 мг/кг QD, поскольку имела место значимая потеря веса тела, что продемонстрировано на фиг. 5В. Аналогично этому обработка HM06/TAS0953 (50 мг/кг BID или 100 мг/кг, QD) вызывала значимое снижение объема опухоли по сравнению с обработанными наполнителем опухолями, при этом сокращение опухолей составляло $8,6 \pm 11,8\%$ и $30 \pm 7,7\%$ соответственно (фиг. 7А и 7Б). Обработка любой дозой

15 HM06/TAS0953 не оказывала значимого влияния на вес тела животных в группах ($p > 0,05$) (фиг. 7В).

PDX-опухоли, полученные из организма пациента, который давал слабый ответ на RXDX-105 (CCDC6-RET), измельчали, смешивали с матригелем и затем

20 имплантировали подкожно в боковую область NSG-мышей. Когда объем опухолей достигал примерно 100 мм³, мышей случайным образом разделяли на группы по 8 животных и начинали обработку (день 12). На этой модели тестировали эффективность HM06/TAS0953 в дозах 50 мг/кг BID и 100 мг/кг QD. Обработка HM06/TAS0953 в дозе 50 мг/кг BID вызывала небольшое, но

25 значимое снижение объема опухоли по сравнению с обработанной наполнителем группой (фиг. 8А). Обработка HM06/TAS0953 в дозе 100 мг/кг QD оказалась более эффективной в отношении замедления роста опухоли. Как продемонстрировано на фиг. 8А, сокращение опухоли не происходило (фиг. 8В). Обработка HM06/TAS0953 не вызывала никакого значимого изменения веса тела

30 животных во всех группах (фиг. 8В).

Эти результаты позволяют предположить, что HM06/TAS0953 обладает эффективностью в отношении снижения роста PDX-опухолей, рефрактерных к кабозантинибу и RXDX-105.

Пример 5Г: NM06/TAS0953 обладает эффективностью в отношении ингибирования роста созданной с использованием ксенотрансплантата ортотопической модели опухоли головного мозга, несущей слияние RET

Для оценки воздействия NM06 на позитивные по слиянию RET опухоли, которые находятся в головном мозге, в головной мозг NSG-мышей имплантировали ксенотрансплантаты опухолей, несущих слияние TRIM33-RET. Эти клетки были сконструированы для экспрессии люциферазы светлячка для облегчения биолуминесцентной визуализации *in vivo*. Ксенотрансплантаты опухоли расщепляли и затем одиночные клетки имплантировали в головной мозг NSG-мышей. Биолуминесцентную визуализацию проводили еженедельно, и при обнаружении устойчивого сигнала начинали обработку через 22 дня после имплантации опухолевых клеток (день 0 на панелях А и Б). Еженедельно проводили визуализацию мышей, и после обнаружения устойчивого сигнала начинали обработку (через 22 дня после имплантации) с использованием NM06/TAS0953 в дозе 50 мг/кг BID или наполнителя. Биолуминесцентные сигналы измеряли количественно согласно методу, описанному в разделе «Материалы и методы». У мышей, которых обрабатывали наполнителем, быстро развивались опухоли, о чем свидетельствовал сильный биолуминесцентный сигнал (фиг. 9А и 9Б), превышающий средний начальный сигнал ($p < 0,05$). При этом в день 22 обнаружено значимое различие между группой, которую обрабатывали наполнителем, и группой, которую обрабатывали NM06 ($p < 0,05$). Выживаемость обработанных NM06 мышей была значимо более продолжительной, чем обработанных наполнителем мышей ($p < 0,05$), при этом три мыши еще оставались живыми по окончании эксперимента, т.е. через 28 дней после умерщвления из-за опухолевой нагрузки последнего животного из группы, которую обрабатывали наполнителем (фиг. 9В). Обработка NM06/TAS0953 не оказывали никакого неблагоприятного воздействия на вес тела подопытных животных (фиг. 9Б, правая панель). Эти результаты подтвердили, что NM06/TAS0953 проникает в головной мозг и обладает эффективностью в отношении находящихся в нем опухолей с RET-реаранжировкой.

Установлено, что RET-специфический ингибитор киназ NM06/TAS0953 блокирует рост доклинических моделей опухолей с реаранжировкой RET,

которые никогда не обрабатывали ингибитором RET, а также опухолей, устойчивых к мультикиназным ингибиторам RET кабозатинибу и RXDX-105. Эффективность HM06/TAS0953 оказалась сопоставимой с эффективностью вандетаниба. Однако обработка вандетанибом приводила к значимой потере веса тела животных, что никогда не имело место при обработке HM06. Важно отметить, что соединение HM06/TAS0953 подавляло рост доклинических моделей позитивного по слиянию RET рака легкого в головном мозге и удлиняло общую выживаемость.

Пример 6. Оценка эффективности HM06/TAS0953 на созданной с помощью ксенотрансплантата ортотопической модели рака легкого, связанного с реаранжировками RET, в головном мозге

Сравнивали эффективность HM06/TAS0953 с эффективностью LOXO-292 и вандетаниба на ортотопической модели позитивного по слиянию TRIM33-RET рака легкого. Обработка мышей, несущих опухоли в головном мозге, HM06/TAS0953 (50 мг/кг BID) блокировала рост опухоли более эффективно, чем LOXO-292 (в дозах 10 мг/кг и 25 мг/кг BID). Соединение HM06/TAS0953 приводило к значимому повышению выживаемости несущих опухоль мышей по сравнению с применяемым в обеих дозах LOXO-292. Вандетаниб (50 мг/кг QD) не приводил к снижению роста опухоли или выживаемости несущих опухоль животных. Представленные в настоящем описании результаты позволяют предположить, что HM06/TAS0953 является более эффективным, чем LOXO-292, в отношении снижения роста опухолей в головном мозге.

Подготовка клеток для инъекции в головной мозг животных и количественная оценка биолюминесцентных изображений: Содержащие слияние TRIM33-RET клетки трансдуцировали ретровирусами, содержащими конструкцию GFP-люцифераза, и затем выделяли GFP-позитивные клетки с помощью FACS. Для создания ксенотрансплантатов опухолей указанные клетки инъецировали подкожно в боковую область мышей линии NSG. Опухоли изымали и расщепляли с использованием набора обеспечивающих диссоциацию ферментов (фирма Miltenyi Biotec) в тканевом процессоре GentleMACS (фирма Miltenyi Biotec) в течение 60 мин и затем нейтрализовали расщепляющие ферменты путем добавления среды для роста, содержащей 10% FBS, и после этого пеллетировали путем центрифугирования. Затем клетки ресуспендировали

в свежей среде для роста, пропускали через 75 мкм-фильтр, подсчитывали, однократно промывали ЗФР и ресуспендировали в ЗФР до плотности 100000 клеток/мкл. Диссоциированные опухолевые клетки инъецировали в головной мозг анестезированных мышей с помощью шприца Гамильтона с иглой 26G (1
5 мкл) в область со следующими координатами: передняя (anterior) (X): 0,5, задняя (posterior) (Y): 1,5, дорсальная (dorsal) (Z): 2,5. Раны герметически закрывали и мышам давали восстановиться. Еженедельно осуществляли биолюминесцентную визуализацию для мониторинга роста опухоли, и изображения анализировали с помощью программного обеспечения Image J. Измеряли площадь (A) и среднюю
10 интенсивность (I) пикселей в представляющей интерес области (ROI), охватывающей все люминесцентные области отдельных мышей, идентифицированные с использованием пороговой функции. Среднюю интенсивность фоновых пикселей (B) измеряли в нелюминесцентных областях. Общую люминесценцию (L) для отдельных мышей, скорректированную на
15 фоновую интенсивность, определяли количественно с использованием следующего уравнения: $L = (I - B) \times A$.

После обнаружения устойчивого сигнала мышей разделяли случайным образом на группы по 6 мышей. Через 10 дней после имплантации клеток начинали обработку наполнителем, 50 мг/кг VID HM06, 100 мг/кг QD
20 HM06/TAS0953 и 10 мг/кг VID LOXO-292. Обработку мышей вандетанибом (50 мг/кг QD) и LOXO-292 (25 мг/кг VID) начинали через 28 дней после имплантации, поскольку потребовалось больше времени, чтобы получить устойчивый биолюминесцентный сигнал от этих мышей. Биолюминесценцию регистрировали еженедельно, а животных взвешивали дважды в неделю. Мышей
25 умерщвляли при обнаружении таких признаков болезни как нарушение координации или чрезмерная потеря веса и усталость.

Наполнители и соединения: Вандетаниб перемешивали в 1%-ной карбоксиметилцеллюлозе натрия (СМС-Na) до образования суспензии. HM06/TAS0953 перемешивали в 0,1н. HCl и 0,5% гипромеллозы (HPMC) до
30 образования суспензии.

Статистический анализ: Сравнение наборов данных осуществляли с помощью двустороннего дисперсионного анализа с использованием критериев Тьюки или Сидака для множественных сравнений для определения значимости.

При $p < 0,05$ разницу между двумя величинами или наборами данных рассматривали как статистически значимую. Кривые выживаемости сравнивали с использованием Log-рангового критерия (Мантеля-Кокса). Построение всех графиков и статистические анализы осуществляли с использованием программного обеспечения Graphpad Prism v8.

HM06/TAS0953 является более эффективным в отношении ингибирования роста созданной с использованием ксенотрансплантата ортотопической модели опухоли головного мозга, содержащей слияние RET, чем LOXO-292: У мышей, обработанных наполнителем, быстро развивались опухоли, о чем свидетельствовал сильный биолюминесцентный сигнал (фиг. 10А и 10Б), превышающий средний начальный сигнал. После обработки в течение 33 дней состояние несущих опухоль мышей в группе, обработанной наполнителем, становилось настолько плохим, что их приходилось умерщвлять. В отличие от этого, через 5 дней после начала обработки имело место значимое снижение люциферазного сигнала, получаемого от мышей, которых обрабатывали HM06/TAS0953 в дозе 50 мг/кг BID ($p = 0,0012$) или 100 мг/кг QD ($p = 0,0008$). HM06/TAS0953 в дозе 50 мг/кг BID блокировало рост опухоли в течение всего периода исследования (обработка в течение 131 дня). Обработка LOXO-292 в дозе 10 мг/кг BID не вызывала никакого снижения биолюминесцентного сигнала и опухоли продолжали расти несмотря на обработку мышей LOXO-292 (фиг. 10Б). Более высокая доза LOXO-292 (25 мг/кг BID) снижала рост опухоли в течение первых 3 недель обработки, но затем опухоли продолжали увеличиваться до тех пор, пока мышей не умерщвляли вследствие высокой опухолевой нагрузки, начиная с 64 дня после начала обработки (фиг. 10Б).

Обработка HM06/TAS0953 приводила к значимому увеличению выживаемости несущих опухоль мышей по сравнению с обработкой LOXO-292 в дозе 10 мг/кг BID ($p = 0,0012$) и LOXO-292 в дозе 25 мг/кг BID ($p=0,001$). В конце исследования у 6 мышей в группе, которую обрабатывали HM06/TAS0953 в дозе 50 мг/кг BID, имел место низкий/не поддающийся определению люциферазный сигнал, и все мыши еще оставались живыми в конце исследования. Не выявлено никакой разницы в выживаемости между двумя группами, которые обрабатывали LOXO-292. Никакая обработка не оказывала неблагоприятного действия на вес тела подопытных животных (фиг. 10Г). Эти результаты

подтверждают, что HM06/TAS0953 проникает в головной мозг и обладает эффективностью в отношении находящихся в нем опухолей с реаранжировкой RET.

RET-специфический ингибитор киназы HM06/TAS0953 блокировал рост
5 клеток рака легкого со слиянием RET, которые имплантировали в головной мозг
мышей, и приводил к увеличенной выживаемости мышей, несущих опухоль.
Учитывая, что LOXO-292 в дозе 10 мг/кг BID является достаточным для того,
чтобы вызывать регресс позитивных по слиянию RET опухолей,
имплантированных подкожно в боковую область мышей, эти данные
10 свидетельствуют о неудовлетворительной доставке LOXO-292 к месту
нахождения опухоли в головном мозге, даже при высокой дозе 25 мг/кг.

Пример 7. Фармакологические исследования безопасности

Проводили фармакологические исследования безопасности для сердечно-
сосудистой, дыхательной и центральной нервной систем. Соединение HM06-
15 01/TAS0953-01 не вызывало каких-либо биологически значимых изменений
просудорожной активности в дыхательной системе.

Центральная нервная система

Поскольку HM06-01/TAS0953-01 легко проникает через
гематоэнцефалический барьер, воздействие на ЦНС оценивали в нескольких
20 фармакологических исследованиях безопасности, как не полностью
удовлетворяющих требованиям GLP (не-GLP-исследования), так и в
исследованиях, полностью удовлетворяющих требованиям GLP (GLP-
исследования).

В 2-недельном токсикологическом GLP-исследовании на крысах проводили
25 тест Ирвина в день 1 через 1,5 часа после второго ежедневного введения HM06-
01/TAS0953-01 в дозах 25, 50 и 125 мг/кг BID. Каждая группа включала 10
самцов и 10 самок крыс. У животных, которым вводили дозы 50 и 125 мг/кг BID,
обнаружено снижение исследовательской активности и возбудимости. Кроме
того, у самок, которым вводили дозу 125 мг/кг BID, обнаружено более высокое
30 среднее количество выделений мочи (0,8 по сравнению с 0,0 у контролей) и
более низкая ректальная температура (37,1°C по сравнению с 37,7°C у
контролей). Однако другие параметры теста Ирвина находились в норме, и

состояние здоровья животных существенно не изменялось, поэтому эти изменения не рассматривались как неблагоприятные.

Для оценки потенциальных просудорожных и противосудорожных воздействий крысам вводили через оральный зонд НМ06 01/TAS0953-01 в дозах 0, 30, 100 и 200 мг/кг SID. Каждая группа включала по 10 самцов крыс. Для оценки потенциальной просудорожной активности вводили орально НМ06 01/TAS0953-01 в указанных уровнях дозы или 35 мг/кг d-амфетамина за 1 час до введения субпороговой дозы 25 мг/кг PTZ с целью оценки просудорожных воздействий. НМ06-01/TAS0953-01 не вызывало никакой просудорожной активности. В контрольной группе или группах, которые обрабатывали НМ06 01/TAS0953-01, не выявлено крыс со стадией 5 тонических/клонических судорог. В то же время в группе положительного контроля, в которой крыс предварительно обрабатывали d-амфетамином, имело место повторяющееся поведение, типичное для лечения крыс агонистами дофамина, и индукция полных тонических/клонических судорог у 3 из 10 крыс. Для оценки относительных противосудорожных воздействий крысам линии Wistar вводили орально НМ06 01/TAS0953-01 или диазепам. НМ06 01/TAS0953-01 в дозах 100 и 200 мг/кг вызывало уменьшение общего числа судорог, индуцированных тестом с предварительным введением пентилентетразола. Эти данные позволяют предположить, что НМ06 01/TAS0953-01 не обладает просудорожной активностью и, что важно отметить, может обладать противосудорожными действиями на крыс.

В ходе 2-недельного исследования токсичности и 4-недельного исследования токсичности на собаках (что описано ниже в примере 8) симптомы, связанные с ЦНС, обнаружены у собак после введения первой суточной дозы ≥ 15 мг/кг BID во время стандартных клинических наблюдений и при дозах ≥ 5 мг/кг BID после первого введения в ФК-исследованиях. Для оценки потенциального нейротоксического действия НМ06-01 проводили окрашивание Fluoro-Jade C девяти различных областей головного мозга (а именно, лобного полюса, хиазмы зрительного нерва, воронки (infundibulum), мамиллярных тел, основания третьего черепно-мозгового нерва, передней части моста и затылочного полюса, мозжечка и продолговатого мозга) контрольных собак и собак, которых обрабатывали НМ06-01/TAS0953-01 в дозе 45 мг/кг BID

(образцы были взяты в ходе 2-недельного исследования токсичности на собаках). Кроме того, проводили иммуноокрашивание ATF3 только для одной контрольной собаки и одной собаки, которую обрабатывали высокой дозой 45 мг/кг BID, для подтверждения альтернативным методом отсутствия каких-либо признаков дегенерации или повреждений нейронов. Не выявлено никакой разницы между головным мозгом контрольной собаки и собаки, обработанной НМ06-01/TAS0953-01, это свидетельствует об отсутствии признаков какой-либо дегенерации нейронов и/или стресса/повреждения нейронов в любой исследованной области мозга собаки.

10 Сердечнососудистая система

В день 12 при проведении описанного выше 2-недельного токсикологического GLP-исследования на собаках изучали изменения на ЭКГ, связанные с воздействием НМ06-01/TAS0953-01. Не обнаружено удлинения QT после повторного введения НМ06-01/TAS0953-01 при уровнях доз 15, 30 и 45 мг/кг BID. Не было выявлено также влияния на частоту сердечных сокращений и ЭКГ при всех протестированных уровнях доз. Напротив, у самок, которым вводили высокую дозу, обнаружено снижение артериального давления через 5 ч после введения первой суточной дозы и через 1 ч после введения второй суточной дозы. Средние величины среднего артериального давления составляли, соответственно, 91 и 93 мм рт.ст. по сравнению с 127 и 115 мм рт.ст. в группе, обработанной наполнителем и по сравнению с 119 мм рт.ст. в исходном состоянии. К моменту времени +8 ч, артериальное кровяное давление возвращалось к контрольному/исходному уровню. Хотя это снижение по сравнению с контролем не было статистически значимым, оно было постоянным и достаточно заметным, чтобы его можно было считать связанным с тестируемым соединением. Тем не менее, поскольку степень изменения была ограниченной и обнаружена только у самок, которым вводили высокие дозы, и поскольку это снижение артериального давления не оказывало негативного влияния на здоровье животных, его можно рассматривать как неопасное.

30 Изменения на ЭКГ, связанные с воздействием НМ06-01/TAS0953-01 изучали также при проведении описанного выше 4-недельного токсикологического GLP-исследования на собаках (которое описано дополнительно в примере 8) на неделе 1 (день 2), неделе 4 (день 23) и в конце 2-

недельного периода восстановления. В день 2 через 2 ч после введения второй суточной дозы не обнаружено никаких воздействий НМ06-01/TAS0953-01 при уровнях доз 15, 30 и 45 мг/кг ВІD. При этом в день 23 были обнаружены не связанные с тестируемым соединением воздействия на параметры электрокардиограммы при введении самцам доз 15 и 30 мг/кг ВІD. И, наоборот, при уровне дозы 45 мг/кг ВІD у самцов было обнаружено не связанное с тестируемым препаратом незначительное увеличение частоты сердечных сокращений и у самок было обнаружено связанное с дозой незначительное (до 8% по сравнению с контролем) удлинение интервала QTc, скорректированного по формулам Фридеричии и Ван де Уотера, при уровнях доз 15, 30 и 45 мг/кг. Указанные воздействия на электрокардиограмму отсутствовали в конце 2-недельного восстановительного периода. Кроме того, на 2-й и 23-й день, а также в конце восстановительного периода не было обнаружено никаких отклонений в ритме и формах волны на электрокардиограмме.

15 Дыхательная система

Проводили также изучение воздействия НМ06-01/TAS0953-01 на дыхательную систему после повторного введения НМ06-01/TAS0953-01 в дозах 25, 50 и 90 мг/кг ВІD в ходе 4-недельного GLP-исследования на крысах, дополнительно описанного в примере 8. Каждая группа включала по 5 животных/группу/пол. Не выявлено ни токсикологически значимых изменений параметров дыхания на 4-й неделе, ни отсроченных хронических эффектов на 6-й неделе, через две недели после окончания периода дозирования.

25 Пример 8. Четырехнедельные исследования токсичности повторных доз на крысах и собаках

Неблагоприятные явления, обусловленные НМ06/TAS0953, оценивали в ходе 4-недельных GLP-исследований токсичности на крысах и собаках с использованием указанного выше дигидрохлорида НМ06/TAS0953 (НМ06-01/TAS0953-01).

30 4-недельное токсикологическое исследование на крысах

В 4-недельном GLP-исследовании токсичности на крысах животным вводили с помощью орального зонда НМ06-01/TAS0953-01 в дозах 0, 25, 50 и 90 мг/кг ВІD. В группе, которую обрабатывали высокой дозой 90 мг/кг ВІD, обнаружена смертность, связанная с тестируемым соединением: 3 самки погибли

или были преждевременно умерщвлены по этическим соображениям (тяжелые клинические признаки, такие как снижение активности, аномальная частота дыхания и вздыбленная шерсть) с 10 по 14 день. При аутопсии, как правило, выявляли изменения цвета легких, гистологически коррелирующие с

5 неблагоприятными воспалительными изменениями в легких от умеренных до выраженных (альвеолярное/периваскулярное воспаление, скопления макрофагов, альвеолярный отек/кровоизлияние). Еще одна самка (сателлит) погибла на 7-й день перед введением препарата. Однако, из-за отсутствия клинических

10 признаков и аномалий при вскрытии, связь с введением тестируемого соединения была сочтена сомнительной.

У обоих полов выявлены клинические признаки, которые были связаны с тестируемым соединением и зависели от дозы, такие как аномальная частота дыхания, аномальные звуки при дыхании, сниженная/повышенная активность, стереотипные движения, сторбленная осанка, низкая посадка, аномальная

15 походка, вращение лап, закрытые глаза, жевательные движения, аномальный зрачок и холодность на ощупь. Эти клинические проявления были кратковременными и чаще всего имели место через 30 минут после введения дозы. Все эти признаки не сохранялись у выздоравливающих животных после

20 окончания приема препарата.

Не обнаружено никакого воздействия на вес тела при введении доз 25 мг/кг и 50 мг/кг, тогда как при введении дозы 90 мг/кг имело место снижение веса тела на 10% у животных обоих полов, связанное с меньшим приростом веса тела и снижением потребления пищи. Эти параметры возвращались к исходному

25 уровню в конце восстановительного периода.

Не обнаружено никаких изменений в офтальмологии и никаких токсикологически значимых острых и хронических воздействий при оценке дыхательной функции. Не обнаружено никакого воздействия на параметры свертывания крови.

При гематологическом анализе обнаружено зависимое от дозы увеличение количества ретикулоцитов у животных обоих полов. Кроме того, обнаружено увеличение количества нейтрофилов только у самцов и увеличение количества тромбоцитов у самцов при введении средних и высоких доз и у самок при введении высоких доз. Статистически значимое более высокое количество

30

лейкоцитов обнаружено также у самцов только при введении высокой дозы. Все эти параметры возвращались к исходному уровню в конце восстановительного периода.

Установлено, что указанные ниже изменения средних показателей
5 клинической химии по сравнению с контрольной группой зависели от дозы и их рассматривали как связанные с тестируемым соединением:

- Зависящее от дозы увеличение AST и ALT, обнаруженное у животных
обоих полов;

- Более высокое АР у самцов при всех дозах;

10 • Более высокий уровень холестерина и более низкий уровень триглицеридов, обнаруженный у самцов при средней и высокой дозе.

Все эти параметры возвращались к исходному уровню в конце восстановительного периода.

Зависящее от дозы увеличение концентрации белка в моче было
15 обнаружено у животных обоих полов, с более высокой частотой встречаемости у самцов, которым вводили высокую дозу (1 г/л у 7/10 самцов), и с более высокой частотой встречаемости у самок, которым вводили среднюю и высокую дозы (≥ 1 г/л у 4/10 самок и 3/7 самок соответственно). Эти параметры возвращались к исходному уровню в конце восстановительного периода. Величина T_{\max} , как
20 правило, составляла 7 ч после введения первой суточной дозы (через 1 ч после введения второй суточной дозы) в день 1 и через 1 ч после введения первой суточной дозы в день 28, при этом величина C_{\max} возрастала с увеличением уровней дозы. Период полувыведения $T_{1/2}$, который можно оценивать после введения второй суточной дозы, находился в диапазоне между 2,03 ч и 3,67 ч.

25 Системное воздействие НМ06 01/TAS0953-01 возрастало с увеличением уровней дозы примерно пропорционально дозе и оно было сходным для животных обоих полов. На 28-й день системного накопления не было обнаружено.

В конце периода дозирования обнаружены микроскопические признаки
воспаления, связанные с НМ06 01/TAS0953-01, в легких, поджелудочной железе
30 (вакуолизация/апоптотические ацинарные клетки), бедренной мышце (физическая гипертрофия), яичках/придатке яичка (вакуолизация клеток Сертоли, дегенерация канальцев, увеличение количества внутритрубчатого клеточного дебриса, снижение содержания сперматозоидов). В конце периода

восстановления связанные с тестируемым соединением воздействия, обнаруженные при умерщвлении в терминальном состоянии и при преждевременных смертях, полностью обратимыми для поджелудочной железы, при этом имели место спорадические случаи с минимальной тяжестью в легких и бедренной мышце, главным образом при введении дозы 90 мг/кг BID, что свидетельствовало о продолжающемся процессе восстановления. Сохранение в период выздоровления связанных с тестируемым соединением изменений в семенниках и придатках яичка, с более высокой частотой встречаемости и тяжести при введении дозы 90 мг/кг свидетельствует о неполном восстановлении.

На основе этих результатов в качестве тяжелой токсической дозы 10 (STD10) была принята доза 50 мг/кг BID, которая соответствовала среднему значению AUC (0-t) в день 1, составляющему 50300 нг•ч/мл для самцов и 37200 нг•ч/мл для самок, а в день 28, 73000 нг•ч/мл для самцов и 74300 нг•ч/мл для самок.

4-недельное токсикологическое исследование на собаках

В 4-недельном GLP-исследовании токсичности на собаках животным вводили с помощью орального зонда 0, 15, 30 и 45 мг/кг BID NM06-01/TAS0953-01 в течение 4 последовательных недель, за которыми следовал 2-недельный период восстановления. В группе, которую обрабатывали высокой дозой 45 мг/кг BID, обнаружена смертность, связанная с тестируемым соединением: 2 самца были преждевременно умерщвлены в день 17 и день 18 по этическим причинам (серьезные клинические признаки, ассоциированные со значительной потерей веса). Основной причиной смерти было многоочаговое подострое воспаление легкой и средней тяжести с распространением на альвеолы или бронхоальвеолы, сопровождавшееся у одного самца гранулемами инородных тел в альвеолах. У другого самца обнаружена минимальная вакуолизация/апоптоз ацинарных клеток поджелудочной железы с апоптозом ацинарных клеток предстательной железы, для которых нельзя исключить связь с тестируемым соединением.

Клинические признаки, связанные с тестируемым соединением, зависели от дозы и их выявляли, начиная с дня 1 после введения дозы ≥ 15 мг/кг BID. Эти признаки включали снижение активности и тремор, лежание на боку,

окрашивание шерсти/кожи, закрытые глаза, ненормальную походку, холодное ощущение на ощупь при всех дозах; рвоту и слюнотечение, обесцвеченную мочу/красный кал, подавленность/протрацию и явную атрофию мышц (задних конечностей) при средних и высоких уровнях дозы. Однако эти клинические признаки были кратковременными и чаще всего проявлялись через 30 мин после введения дозы.

Низкая доза не оказывала воздействия на вес тела, при этом потеря веса тела обнаружена в период между днем 1 и днем 29 при дозе 30 и 45 мг/кг у самок и у преждевременно умерщвленных самцов при дозе 45 мг/кг (-25% для самца № 644 и -12% для самца № 642 в день 15 и 17 соответственно). В конце периода восстановления самки, которым вводили средние и высокие дозы, набирали вес, но у них прирост веса тела оказался меньше, чем у контрольных животных.

Не обнаружено никаких изменений в офтальмологии, анализе мочи, показателях свертываемости крови и клинических химических параметров.

При гематологическом анализе обнаружено увеличение общего количества лейкоцитов у животных обоих полов за счет увеличения количества моноцитов (при всех дозах в зависимости от дозы) и увеличения количества нейтрофилов (при высокой дозе только у самок и при средних и высоких дозах у самцов); увеличение количества ретикулоцитов при высокой дозе только у самцов и увеличение количества тромбоцитов у животных обоих полов при высоких и/или промежуточных дозах. Снижение количества эозинофилов рассматривалось как сомнительное, учитывая, что оно касалось только самок и не зависело от дозы. Все эти параметры возвращались к исходному уровню в конце периода восстановления, за исключением моноцитов при высокой дозе у самцов и эозинофилов у самок.

Величина t_{max} составляла от 1 ч до 8 ч после введения первой суточной дозы (через 1 ч после введения первой суточной дозы и через 2 ч после введения второй суточной дозы). На основе оценки $AUC_{(0-t)}$ установлено, что системное воздействие НМ06/TAS0953 увеличивалось несколько в большей степени, чем пропорционально дозе, за исключением доз от 30 до 45 мг/кг BID у самцов и самок в день 28, когда увеличение было меньше, чем пропорционально дозе. Сходное воздействие НМ06/TAS0953 обнаружено у самцов и самок в день 1 и

день 28 при всех введенных дозах. Воздействие NM06/TAS0953 в день 28 по сравнению с днем 1 было сходным при дозе 30 мг/кг BID и уменьшалось или оставалось сходным для некоторых особей при дозах 15 и 45 мг/кг BID.

В конце периода дозирования обнаружено снижение среднего веса тимуса у
5 всех самок и снижение среднего веса предстательной железы у самцов при дозе
30 мг/кг BID и у единственного выжившего самца при дозе 45 мг/кг BID. При
гистопатологическом анализе обнаружены индуцированные NM06 01/TAS0953-
01 воспалительные микроскопические проявления в легких (подострое
10 воспаление с распространением в альвеолы или бронхоальвеолы),
поджелудочной железе (вакуолизация/апоптоз ацинарных клеток) и тимусе
(атрофия). Полученные в конце периода восстановления данные о воздействиях,
связанных с тестируемым соединением, на легкие, свидетельствовали о процессе
продолжающегося восстановления. Полученные в конце периода восстановления
данные гистологического анализа поджелудочной железы и тимуса,
15 свидетельствовали о присутствии имеющих сходную тяжесть и/или
спорадических поражений в контрольной и подвергавшихся обработке группах
без признаков токсичности или изменения функции, которые спонтанно
возникали в исследованиях на собаках породы бигль.

На основании этих результатов в этом исследовании установлено, что
20 максимальная не приводящая к тяжелой токсичности доза (HNSTD) составляла
30 мг/кг BID, что соответствовало среднему значению $AUC_{(0-t)}$ в день 1, равному
21400 нг•ч/мл у самцов и 29200 нг•ч/мл у самок, и в день 28 равному 22300
нг•ч/мл у самцов и 29100 нг•ч/мл у самок.

Пример 9. Корреляция между концентрацией свободной фракции
25 NM06/TAS0953 в плазме и концентрацией свободной фракции в головном мозге
и цереброспинальной жидкости

Оценивали фармакокинетические параметры NM06/TAS0953 в
префронтальной области коры головного мозга, цереброспинальной (CSF) и
плазме свободно передвигающихся взрослых самцов крыс линии Han® Wistar
30 после однократного орального введения доз дигидрохлорида NM06/TAS09533,
составляющих 3, 10 и 50 мг/кг (дозы даны в пересчете на вводимое соединение в
форме свободного основания), представленные ниже в таблице 3.

Таблица 3 – ФК-параметры в организме крыс после орального и IV введения в 5%-ном растворе глюкозы

Группа	Доза	Время полужизни	T_{max}	C_{max}	AUC_{INF}	F	CL/F	V_{ss}/F
	мг/кг	(ч)	(ч)	(нМ•ч)	(нМ•ч)	%	мл/мин/кг	л/кг
Оральное введение								
1	3	1.3	0.5	1076	2509	47	36	4.6
2	10	2.5	0.5	2678	8255	46	34	6.1
3	30	2.8	0.5	6253	26569	49	32	7.5
4	50	3.7	1	7148	46162	51	32	10.2
Внутривенное введение								
5	3	1.35	0.083	3985	5389	100	17	1.6

5 Экспозиция НМ06/TAS0953 в префронтальной области коры головного мозга (PFC), плазме и цереброспинальной жидкости (CSF) возрастала с увеличением дозы в значительной степени пропорционально дозе в диапазоне применяемых доз от 3 до 50 мг/кг. Величины T_{max} , составляющие 0,5–1 ч, свидетельствуют о быстрой абсорбции НМ06/TAS0953 с коротким периодом
10 полувыведения, хорошей величиной F% (46-51%), умеренным плазменным клиренсом, большим объемом распределения и незначительным почечным клиренсом. На фиг. 11А представлена зависимость концентрации в плазме от времени после однократного орального введения НМ06/TAS0953 в дозах 3, 10, 30 и 50 мг/кг. На фиг. 11Б представлена зависимость концентрации в плазме
15 крови от времени после однократного орального и внутривенного введения НМ06/TAS0953 в дозе 3 мг/кг.

После достижения равновесия между компартментами соотношение между обнаруженными концентрациями НМ06/TAS0953 в MetaQuant-микродиализатах из свободной фракции в PFC, CSF и плазме оказалось близким к 1:1:1. Это
20 соотношение концентраций сохранялось в течение периода времени с 2 ч до 6,5 ч после введения НМ06/TAS0953 (для CSF вплоть до 8 ч). На фиг. 11В представлено наложение фармакокинетических профилей свободной фракции в плазме, PFC и CSF в течение периода времени с 2 ч до 6,5 ч после введения.

Соотношение между концентрациями свободной фракции в плазме и
25 свободной фракции в головном мозге, составляющее 1:1, свидетельствует о том, что НМ06/TAS0953 легко пересекает гематоэнцефалический барьер. Концентрацию свободной фракции НМ06/TAS0953 в плазме можно использовать для оценки с хорошей точностью концентрации свободной

фракции HM06/TAS0953 в головном мозге и CSF. Высокая способность к проникновению в головной мозг может улучшать исходы, касающиеся ЦНС (например, контроль, продолжительность ответа и/или защиту от метастазов в ЦНС).

5 Пример 10. Оценка целевой селективности HM06/TAS0953 в отношении RET

10 Селективность HM06/TAS0953 в отношении RET сравнивали с селективностью LOXO-292 и BLU-667. Как продемонстрировано в таблице 4, HM06/TAS0953 обладало более высокой селективностью в отношении RET по сравнению с селективностью в отношении других киназ, оцениваемой на основе величин IC₅₀, по сравнению с LOXO-292 и BLU-667.

Таблица 4 – Величины IC₅₀, характеризующие ингибирование киназ

Киназа		HM06/TAS0953	LOXO-292	BLU-667
		IC ₅₀ (нМ)	IC ₅₀ (нМ)	IC ₅₀ (нМ)
«Близкая» к RET киназа	RET	0,33	0,13	0,31
	KDR	172	14	35
	FLT1	2958	26	57
	FLT3	911	22	11
	FLT4	150	4,0	6,3
	PDGFR α	735	44	12
	PDGFR β	2759	67	7,7
	FGFR1	2724	64	15
	FGFR2	1852	34	35
	FGFR3	2152	51	58
	DDR1	1192	103	7,1
DDR2	>3000	417	7,7	
Семейство киназ JAK	JAK1	>3000	> 3000	2,6
	JAK2	>3000	> 3000	1,1
	JAK3	>3000	2838	6,1

15 С позиции безопасности более высокая целевая селективность HM06/TAS0953 в отношении RET позволяет минимизировать побочные действия, вызываемые потенциальным ингибированием нецелевых киназ, что может быть ценным для клинических применений.

Пример 11. Определение начальной дозы для исследований на людях

20 Расчет начальной дозы для исследований на людях осуществляли с использованием данных 4-недельных повторных токсикологических исследований, проведенных в соответствии с GLP, на основе 1/10-й части

тяжелой токсической дозы для 10% (STD 10) обработанных крыс и 1/6-й части максимальной не приводящей к тяжелой токсичности дозы (HNSTD) для собак, в соответствии с руководствами ICH S9.

5 В 4-недельном исследовании токсичности на крысах величина STD 10 была установлена на уровне 50 мг/кг BID. Доза 50 мг/кг BID (равная суточной дозе 100 мг/кг) соответствует эквивалентной дозе для человека (HED), составляющей 8 мг/кг BID. Если применять коэффициент безопасности, равный 10, то начальная доза для человека может составлять 0,8 мг/кг или 48 мг BID для пациента с весом тела 60 кг. Вводили дополнительный коэффициент

10 безопасности, равный 2,5, из-за зависящего от дозы воспаления альвеол и связанных с тестируемым соединением изменений в семенниках и придатках яичка, обнаруженных в ходе 2- и 4-недельного исследования токсичности на крысах с продолжающимся прогрессивным восстановлением и неполным восстановлением до исходного уровня в конце 2-недельного периода

15 восстановления и в конце 4-недельного периода восстановления соответственно, и из-за воздействий на ЦНС, обнаруженных в FOB у крыс после орального введения в дозе ≥ 50 мг/кг SID. В результате предполагаемая начальная доза для человека должна составлять 20 мг BID.

20 Максимальная не приводящая к тяжелой токсичности доза (HNSTD) для собак представляет собой высокую дозу, протестированную в 4-недельном исследовании токсичности на собаках (30 мг/кг BID). Доза 30 мг/кг BID (равная суточной дозе 60 мг/кг) соответствует эквивалентной дозе для человека (HED) 16,2 мг/кг BID или 972 мг BID для пациента с BW 60 кг. Если применять коэффициент безопасности, равный 6, как указано в руководстве ICH S9, то

25 начальная доза для человека может составлять 2,7 мг/кг или 162 мг BID для пациента весом 60 кг. Также как и при использовании результатов исследований на крысах, применяли дополнительный коэффициент безопасности 2,5 из-за зависящего от дозы воспаления альвеол, которое наблюдалось также и у собак, с продолжающимся прогрессивным выздоровлением в конце 2-недельного

30 периода восстановления, удлинения интервала QTcF, наблюдаемого в 4-недельном исследовании на собаках, и связанных с ЦНС клинических проявлений, отмеченных в ходе исследований общей токсичности с дня 1 после

первого введения дозы ≥ 15 мкг/кг BID. Это приводит к предполагаемой начальной дозе для человека 64,8 мг.

Для испытаний на людях была установлена начальная доза, составляющая 20 мг BID (т.е. 40 мг/день на пациента), на основании данных 4-недельных повторных токсикологических исследований, проведенных в соответствии с GLP. Она была установлена на основе 1/10-й части тяжелой токсической дозы для 10% (STD 10) обработанных крыс и 1/6-й части максимальной не приводящей к тяжелой токсичности дозы (HNSTD) для собак. Схема ускоренного титрования (ATD) позволяет не подвергать слишком много пациентов воздействию потенциально неэффективной дозы, вводя при этом исследуемые дозы лекарственного средства в пределах приемлемой переносимости.

Пример 12. Оценка безопасности, переносимости, фармакокинетики (ФК) и противоопухолевой активности HM06/TAS0953 на пациентах с запущенными солидными опухолями с аномалиями гена RET

Для оценки безопасности, переносимости, фармакокинетики (ФК) и противоопухолевой активности HM06/TAS0953 проводили фазу I/II открытого однокрупного исследования, впервые проводимого на людях. Исследование состояло из двух частей: части, представляющей собой фазу I, которую проводили на когорте с эскалацией дозы и когорте с расширением дозы, и части, представляющей собой фазу II, которую проводили на 3 когортах. Лечение подвергали пациентов с запущенными солидными опухолями с аномалиями гена RET. В обеих частях исследования цикл лечения заключался в осуществлении непрерывного дозирования в течение 21 дня, при этом между циклами лечение не прекращали. Дозирование должно продолжаться до прогрессирования заболевания, потери клинической пользы, развития неприемлемых нежелательных явлений, начала нового противоопухолевого лечения, отзыва согласия, по усмотрению врача, по причине смерти или прекращения наблюдения. Исследования на фазе I/II также должны включать оценку безопасности, включая оценку частоты, тяжести и взаимосвязи TEAE и серьезных нежелательных явлений (SAE), изменений гематологических показателей и химического состава крови, оценку результатов физикальных обследований, жизненно важных показателей и электрокардиограмм (ЭКГ).

Таблетки НМ06/ТАS0953 следует принимать орально ВІD (примерно каждые 12 часов) натощак (т.е. не следует принимать пищу в промежутке между 2 ч до и 1 ч после введения лекарственного средства).

5 Фаза I исследования должна включать оральное введение НМ06/ТАS0953, начиная с начальной дозы 20 мг, два раза в день, до достижения максимальной переносимой дозы (МТD), при этом дозирование следует осуществлять непрерывно ежедневно с продолжительностью циклов 21 день.

10 На основе доклинических данных об эффективности (величине ED₅₀ при оральном введении в дозе 3 мг/кг/день, установленной на мышинной модели), данных о безопасности (при оральном введении доз 25 и 50 мг/кг ВІD крысам в ходе 4-недельного токсикологического исследования), предполагаемом клиренсе у человека, составляющем 6,4 мл/мин/кг по данным, полученным с помощью модели с хорошим перемешиванием (Well-stirred modelling (WSM)) с использованием рекомбинантных белков СYP, и предполагаемой 50%-ной биодоступности при оральном введении у людей, можно предположить, что признаки противоопухолевой эффективности НМ06/ТАS0953 у онкологических больных должны проявляться, начиная примерно с дозы 40 мг ВІD, которой соответствует суточная экспозиция НМ06/ТАS0953 $AUC_{0-24, ss} \geq 1650$ нг*ч/мл. Максимальная вводимая доза может варьироваться от 500 мг/день ВІD до 1500 мг/день ВІD и обеспечивать суточную экспозицию $AUC_{0-24, ss} \geq 22000$ нг*ч/мл и ≤ 63000 нг*ч/мл. Эти экспозиции эквивалентны соответственно тем, которые достигаются при безопасной дозе 25 мг/кг ВІD, что ниже, чем STD10, и при STD10, составляющей 50 мг/кг ВІD для крыс (измеренные величины АUC у животных скорректированы для людей путем умножения на соотношение несвязанных фракций при пересчете от животного на человека). Исходя из приведенных выше предположений, максимальная доза, вводимая в данном исследовании, может варьироваться от 500 мг ВІD до 1500 мг ВІD.

30 Фаза II исследования должна включать оральное введение рекомендованной дозы дважды в день при непрерывном ежедневном дозировании с продолжительностью циклов 21 день.

Фаза I с эскалацией дозы

Исследование на фазе I с эскалацией дозы должно проводиться согласно схеме ускоренного титрования (АТD) с начальной ускоренной фазой (1 пациент

на 1 уровень дозы) с шагом увеличения дозы на 100%, начиная с начальной дозы 20 мг BID. Ускоренную фазу трансформируют в схему 3+3 после перехода к когорте, которой вводят 80 мг BID. Если в первом цикле лечения (т.е. в первый 21-дневный период лечения, цикл 1) не выявлено связанной с лекарственным средством токсичности степени ≥ 2 , рассматриваемой как клинически значимая Комитетом по надзору за безопасностью (SRC), или ограничивающих дозу токсичностей (DLT) на ускоренной фазе, и у 0/3 или $<2/6$ пациентов обнаружена DLT на стандартной фазе, то эскалацию дозы для новых пациентов следует продолжать вплоть до достижения максимальной переносимой дозы (MTD).

10 Первая когорта должна состоять из 1 пациента, которому следует вводить HM06/TAS0953 непрерывно в течение 21 дня в течение 21-дневного цикла. Если во время цикла 1 у указанного пациента не обнаружено релевантных связанных с лекарственным средством токсичностей, то следует переходить к следующей когорте; согласно схеме опыта в ускоренной фазе исследования должны
15 участвовать от одной до трех когорт, в то время как количество когорт в стандартной фазе предсказать невозможно, поскольку эскалацию дозы следует продолжать до достижения MTD.

MTD определяют следующим образом: наивысший уровень дозы, при котором менее чем у 33% или у 33% пациентов обнаружена DLT в цикле 1.

20 DLT определяют следующим образом: возникающая вследствие обработки токсичность в первом цикле лечения согласно протоколу исследования (за исключением АЕ, которые по мнению исследователя явно связаны с прогрессированием заболевания или интеркуррентным заболеванием и не связаны с исследуемым лекарственным средством).

25 Рекомендуемую дозу для фазы 2 (RP2D) определяют следующим образом: подлежащая тестированию на фазе 2 доза, установленная на основе общей безопасности, переносимости, параметров ФК и оценок эффективных экспозиций, экстраполированных на основе доклинических данных, полученных для пациентов, которых лечили с эскалацией дозы и расширением уровней дозы.
30 RP2D может быть равна или может быть ниже, но не выше MTD. Если MTD не достигнута, то RP2D не должна превышать самую высокую протестированную дозу.

Основной целью исследования на фазе I с эскалацией дозы является определение максимальной переносимой дозы (MTD) в течение первых 21 дня лечения (цикл 1) и определение рекомендуемой дозы для фазы 2 (RP2D).

5 Основными вторичными целями исследования на фазе I с эскалацией дозы являются оценка индивидуальных ФК-профилей НМ06/TAS0953 и его метаболитов в плазме после однократного и многократного введения (плотная выборка образцов); экскреции с мочой после однократного введения; безопасности и переносимости; противоопухолевой активности; и изменений статуса гена RET в циркулирующей свободной нуклеиновой кислоте, полученной с помощью жидкой биопсии во время лечения.

10 Фармакокинетическую оценку НМ06/TAS0953 и метаболитов можно проводить путем измерения концентрации НМ06/TAS0953 и основных метаболитов в плазме, а также ФК-параметров, включая (но не ограничиваясь только этим) площадь под кривой с момента времени 0 до 24 ч (AUC_{0-24}), максимальную концентрацию лекарственного средства (C_{max}), время до достижения максимальной концентрации в плазме крови (T_{max}) и уровень накопления. Можно определять концентрации НМ06/TAS0953 в цереброспинальной жидкости (CSF). Одновременно можно брать образец плазмы для оценки соотношения концентраций в CSF/плазме.

20 В исследование можно включать вплоть до 36 пациентов, пригодных для оценки DLT; общее число пациентов должно зависеть от количества требуемых повышений дозы и возможных замен пациентов. Целевая исследуемая популяция может включать пациентов с запущенной солидной опухолью с аномалиями гена RET.

25 Фаза I с расширением дозы:

На фазе I исследования с расширением дозы уровень дозы RP2D может быть расширен с привлечением дополнительных пациентов. На субпопуляции пациентов должно быть оценено влияние пищи на биодоступность НМ06/TAS0953 согласно рандомизированной перекрестной схеме.

30 Первичной целью исследования на фазе I с расширением дозы является подтверждение рекомендуемой для фазы 2 дозы (RP2D) на целевой популяции для применения на 3 когортах, участвующих в фазе II. Временные рамки эскалации дозы должны включать первые 21 день лечения (цикл 1) и каждый

цикл (21 день) в течение приблизительно 10 месяцев (или раньше, если пациент прекратит участие в исследовании).

Основными вторичными целями исследования на фазе I с расширением дозы являются оценка индивидуальных ФК-профилей NM06/TAS0953 и его
5 метаболитов в плазме в стационарном состоянии с использованием плотной выборки образцов, взятых у субпопуляции пациентов, для индивидуальной характеристики ФК и с использованием разреженной выборки образцов, взятых у всех остальных пациентов, для популяционного анализа ФК; влияние пищи на биодоступность NM06/TAS0953 в субпопуляции пациентов; безопасность и
10 переносимость; противоопухолевая активность; и изменения статуса гена RET в циркулирующей свободной нуклеиновой кислоте, полученной с помощью жидких биопсий во время лечения.

В исследование можно включать от 20 до 30 пациентов, в том числе по меньшей мере 10 пациентов с поддающимися измерению (согласно
15 рекомендации рабочей группы RANO) метастазами в ЦНС на исходном уровне. Предварительную оценку влияния пищи на биодоступность NM06/TAS0953 в ходе фазы исследования с расширением дозы можно проводить на десяти пациентах, участвующих в оценке ФК.

Целевая исследуемая популяция включает пациентов с
20 местнораспространенным или метастатическим NSCLC с первичным слиянием генов RET (с обуславливающими устойчивостью мутациями или без них) и подвергавшихся ранее воздействию селективных ингибиторов RET. Пациенты должны иметь документально подтвержденное прогрессирование заболевания после применения существующих методов лечения, которые, по мнению
25 исследователя, демонстрировали клиническую пользу, или быть неспособными получать такие терапевтические методы лечения.

Фаза II:

На фазе II исследования пациентов в трех когортах, а именно, когорте 1 и когорте 2 (основная), и когорте 3 (исследовательская), должны лечить с
30 использованием уровня дозы RP2D.

Первичной целью фазы II исследования является оценка противоопухолевой активности (общей и при необходимости внутривенной) выбранной RP2D на трех различных популяциях. Частоту ответов следует

оценивать у пациентов, у которых не было прогрессирования, примерно каждые 6 недель (± 1 неделя) в течение первых 6 месяцев, затем каждые 9 недель (± 1 неделя) до прогрессирования заболевания или завершения исследования.

Основными вторичными целями фазы II исследования являются оценка безопасности и переносимости на трех когортах; индивидуальные ФК-профили НМ06/TAS0953 и его метаболитов в плазме в стационарном состоянии с использованием разреженной выборки образцов, взятых у всех пациентов, для популяционного анализа ФК; и изменения статуса гена RET в циркулирующей свободной нуклеиновой кислоте, полученной с помощью жидких биопсий во время лечения. Можно определять концентрации НМ06/TAS0953 в цереброспинальной жидкости (CSF). Одновременно можно брать образец плазмы для оценки соотношения концентраций в CSF/плазме.

Дополнительные вторичные показатели исхода могут включать определяемую исследователем ORR (объективная частота ответа); частоту контроля заболевания; время до ответа опухоли; продолжительность ответа; время до прогрессирования; выживаемость без прогрессирования; общую выживаемость; а также любой из вышеперечисленных показателей, касающийся конкретно центральной нервной системы.

На фазе II исследования в когорту 1 могут быть включены 55 пациентов в соответствии с одностадийной схемой. Для исследования в когорту 2 могут быть включены вплоть до 61 пациента в соответствии с двухстадийной схемой Симона (продолжают участвовать 24 пациента, которые участвовали в первой стадии, и 37 пациентов, отобранных для второй стадии). Для исследования в когорту 3 могут быть включены по три пациента на группу для каждого типа опухоли. При обнаружении клинической пользы можно включать большее количество пациентов.

Целевая исследуемая популяция в когорте 1 (основная) может включать: пациентов с местнораспространенным или метастатическим NSCLC с первичным слиянием генов RET (с обуславливающей устойчивостью мутациями или без них) и которых ранее лечили селективными ингибиторами RET, с документально подтвержденным прогрессированием заболевания после существующих терапий, которые, по мнению исследователя, демонстрировали клиническую пользу, или которые не могут получать такие терапии; с

поддающимися измерению метастазами в головной мозг и/или лептоменингеальными метастазами и без них.

Целевая исследуемая популяция в когорте 2 (основная) может включать: пациентов с местнораспространенным или метастатическим NSCLC со слиянием генов RET, которых не подвергали лечению селективными ингибиторами RET, с документально подтвержденным прогрессированием заболевания после существующих терапий, которые, по мнению исследователя, демонстрировали клиническую пользу, или которые не могут получать такие терапии; с поддающимися измерению метастазами в головной мозг и/или лептоменингеальными метастазами и без них.

Целевая исследуемая популяция в когорте 3 (исследовательская) может включать: пациентов с запущенными солидными опухолями с аномалиями гена RET (отличных от пациентов с NSCLC с первичными слияниями гена RET) и которые не давали требуемого ответа при использовании всех доступных вариантов терапевтического лечения или которые, по мнению исследователя, вряд ли получат существенную пользу от других терапий, и/или если пациент отказывается от них.

Критерии включения для фаз I/II исследования могут включать:

- Фаза I – Общие критерии включения для эскалации дозы/расширения дозы:
 - Пациент мужского или женского пола возрастом ≥ 18 лет.
 - Балл оценки общего состояния онкологического больного по шкале Восточной Объединенной Онкологической группы (ECOG) 0 или 1.
 - Доступные на исходном этапе данные об аномалии гена RET, полученные на основе биопсии ткани или жидкой биопсии.
 - Удовлетворяющий требованиям гемопоэз, характеризующийся следующими параметрами:
 - Количество тромбоцитов ≥ 100000 /мкл
 - Абсолютное количество нейтрофилов ≥ 1500 /мкл
 - Уровень гемоглобина $\geq 9,0$ г/дл (можно использовать трансфузию эритроцитов и применять эритропоэтин для достижения уровня не менее 9,0 г/дл, но это необходимо осуществлять по меньшей мере за 2 недели до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства).

- Удовлетворяющая требованиям печеночная функция, характеризующаяся следующими параметрами: уровень общего сывороточного билирубина $\leq 1,5 \times$ ULN (верхняя граница нормы), сывороточного альбумина ≥ 2 г/дл, уровни AST и ALT $\leq 2,5 \times$ ULN при отсутствии метастазов в печень; $\leq 5 \times$ ULN при наличии метастазов в печень.
5
- Удовлетворяющая требованиям почечная функция, характеризующийся следующими параметрами: уровень креатинина в сыворотке крови $\leq 2 \times$ ULN или расчетный клиренс креатинина ≥ 60 мл/мин.
- Пациенты мужского и женского пола, способные к деторождению и имеющие риск забеременеть, должны дать согласие на использование высокоэффективного метода контрацепции с даты подписания формы информированного согласия на протяжении всего исследования и продолжать ее в течение 180 дней после введения последней дозы назначенного лечения.
10 Пациент обладает детородным потенциалом, если, по мнению исследователя, он/она биологически способен/способна иметь детей и является сексуально активным/активной.
15
- Фаза I с эскалацией дозы – Специфические критерии включения:
 - Пациент с запущенными солидными опухолями с наличием аномалий гена RET.
20
 - Поддающееся измерению и/или не поддающееся измерению заболевание согласно критериям RECIST 1.1
Пациент должен иметь документально подтвержденное прогрессирование заболевания после применения по меньшей мере одной или нескольких предшествующих линий терапии запущенных солидных опухолей или исчерпать все доступные методы лечения.
25
 - Если у пациента имеются метастазы в головной мозг и/или лептоменингеальные метастазы, то он должен иметь бессимптомные метастазы. Допускается наличие как поддающихся измерению, так и не поддающихся измерению повреждений, в соответствии с рекомендациями Рабочей Группы (WG) RANO.
30
 - Если пациента уже подвергали предшествующему лечению селективными ингибиторами, то с момента предшествующего лечения селективными

ингибиторами RET до введения первой дозы HM06/TAS0953 должно пройти не менее 5 периодов полувыведения.

• Фаза I с расширением дозы – Специфические критерии включения:

5 ○ Пациенты с местнораспространенным или метастатическим NSCLC с первичным слиянием генов RET (с обуславливающими устойчивостью мутациями или без них) и которых ранее подвергали воздействию селективных ингибиторов RET:

• с документально подтвержденным прогрессированием заболевания после применения существующих методов лечения, продемонстрировавших по
10 мнению исследователя клиническую пользу, или которые не могут получать такие терапии;

• с метастазами в головной мозг и/или лептоменингеальными метастазами на исходном уровне или без них.

○ Если пациента имеет метастазы в головной мозг и/или лептоменингеальные
15 метастазы, то он/она должен/должна иметь:

• бессимптомные не подвергавшиеся лечению метастазы в головной
мозг/лептоменингеальные метастазы после приема стероидов и
противосудорожных препаратов в течение по меньшей мере 7 дней (их следует
учитывать в качестве целевых поражений, если они имеют соответствующий
20 размер),

или

• бессимптомные метастазы в головной мозг, уже подвергавшиеся местной
терапии (WBRT/SRT/хирургия), и клинически стабильные при применении
стероидов и противосудорожных препаратов в течение по меньшей мере 7 дней
25 перед введением исследуемого лекарственного средства.

○ Поддающееся измерению заболевание согласно критериям RECIST 1.1.

○ С момента предшествующего лечения селективными ингибиторами до
введения первой дозы HM06/TAS0953 должно пройти не менее 5 периодов
полувыведения.

30 ○ Либо документально подтвержденный статус RET, предпочтительно с помощью NGS-теста (секвенирование нового поколения), проведенного на месте, либо продемонстрированное существенное и длительное (>6 месяцев) клиническое благоприятное действие предыдущего лечения ингибиторами RET.

- Фаза II – Общие критерии включения для когорт 1-3
 - Пациент мужского или женского пола возрастом ≥ 18 лет.
 - Балл оценки общего состояния онкологического больного по шкале Восточной Объединенной Онкологической группы (ECOG) 0-2.
- 5
- Доступные на исходном этапе данные об аномалиях гена RET, полученные на основе биопсии ткани или жидкой биопсии.
 - Поддающееся измерению заболевание согласно критериям RECIST 1.1.
 - Если у пациента имеются метастазы в головной мозг и/или лептоменингеальные метастазы, то он/она должен/должна иметь:
- 10
- бессимптомные не подвергавшиеся лечению метастазы в головной мозг/лептоменингеальные метастазы после приема стероидов и противосудорожных препаратов в течение по меньшей мере 7 дней (их следует учитывать в качестве целевых поражений, если они имеют соответствующий размер)
- 15
- или
 - бессимптомные метастазы в головной мозг, уже подвергавшиеся местной терапии (WBRT/SRT/хирургия), и клинически стабильные при применении стероидов и противосудорожных препаратов в течение по меньшей мере 7 дней перед введением исследуемого лекарственного средства.
- 20
- Удовлетворяющий требованиям гемопоз, характеризующийся следующими параметрами:
 - Количество тромбоцитов ≥ 100000 /мкл
 - Абсолютное количество нейтрофилов ≥ 1500 /мкл
 - Уровень гемоглобина $\geq 9,0$ г/дл (можно использовать трансфузию
- 25
- эритроцитов и применять эритропэтин для достижения уровня не менее 9,0 г/дл, но это необходимо осуществлять по меньшей мере за 2 недели до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства).
 - Удовлетворяющая требованиям печеночная функция, характеризующаяся следующими параметрами: уровень общего сывороточного билирубина $\leq 1,5 \times$
- 30
- ULN (верхняя граница нормы), сывороточного альбумина ≥ 2 г/дл, уровни AST и ALT $\leq 2,5 \times$ ULN при отсутствии метастазов в печень; $\leq 5 \times$ ULN при наличии метастазов в печень.

- Удовлетворяющая требованиям почечная функция, характеризующаяся следующими параметрами: уровень креатинина в сыворотке крови $\leq 2 \times \text{ULN}$ или расчетный клиренс креатинина ≥ 60 мл/мин.
- Пациенты мужского и женского пола, способные к деторождению и имеющие риск забеременеть, должны дать согласие на использование высокоэффективного метода контрацепции с даты подписания формы информированного согласия на протяжении всего исследования и продолжение ее в течение 180 дней после введения последней дозы назначенного лечения. Пациент обладает детородным потенциалом, если, по мнению исследователя, он/она биологически способен/способна иметь детей и является сексуально активным/активной.
- Фаза II, когорта 1 – Специфические критерии включения:
 - Пациент с местнораспространенным или метастатическим NSCLC с первичным слиянием гена RET (с обуславливающими устойчивостью мутациями или без них) и которого ранее подвергали лечению селективными ингибиторами RET.
 - Документально подтвержденное прогрессирование заболевания после применения существующих терапий, которые, по мнению исследователя, продемонстрировали клиническую пользу, или невозможность получать такие терапии;
 - С момента предшествующего лечения селективными ингибиторами RET до введения первой дозы HM06/TAS0953 должно пройти не менее 5 периодов полувыведения.
 - Либо документально подтвержденный статус RET, предпочтительно с помощью NGS-теста, проведенного на месте, либо продемонстрированное существенное и длительное (>6 месяцев) клиническое благоприятное действие предыдущего лечения ингибиторами RET.
- Фаза II, когорта 2 – Специфические критерии включения:
 - Пациент с местнораспространенным или метастатическим NSCLC с первичным слиянием гена RET, которого ранее не подвергали лечению селективными ингибиторами RET.
 - Документально подтвержденное прогрессирование заболевания после применения существующих терапий, которые, по мнению исследователя,

продемонстрировали клиническую пользу, или невозможность получать такие терапии.

• Фаза II, когорта 3 – Специфические критерии включения:

5 ○ Пациенты с запущенными солидными опухолями с аномалиями гена RET (за исключением пациентов с NSCLC с первичными слияниями гена RET), которые не давали требуемого ответа при использовании всех доступных вариантов терапевтического лечения или которые, по мнению исследователя, вряд ли получат существенную пользу от других терапий, и/или если пациент отказывается от них; указанные опухоли могут включать (но не ограничиваясь только ими):

10 • Медуллярный или анапластический рак щитовидной железы, который прогрессировал или у которого развилась невосприимчивость к действию селективных ингибиторов RET;

• Метастатический рак молочной железы;

15 • Метастатическая аденокарцинома поджелудочной железы;

• NSCLC с проявлением пути RET после (но не ограничиваясь только ими) EGFR/ALK/ROS1/BRAF-таргетных терапий.

20 Если пациента уже лечили ранее селективными ингибиторами, то с момента предыдущего лечения селективными ингибиторами RET до введения первой дозы HM06/TAS0953 должно пройти не менее 5 периодов полувыведения.

Критерии исключения для фазы I/II исследования могут включать:

• Фаза I – Общие критерии исключения для фазы с эскалацией дозы/расширением дозы:

○ Кормящая женщина.

25 ○ Применение исследуемых агентов или противораковой терапии в пределах 5 периодов полувыведения (или 1 периода полувыведения для лекарственных средств длительного действия, таких как противораковые антитела и другие биологические лекарственные средства, при условии отсутствия остаточной токсичности) до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства.

30 ○ Серьезное хирургическое вмешательство (за исключением установки сосудистого доступа) в течение 4 недель до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства или запланированное серьезное хирургическое вмешательство во время проведения исследуемого лечения.

- Пациент, которого подвергали WBRT в течение 14 дней или другой паллиативной лучевой терапии в течение 7 дней до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства, или который еще не восстановился от побочных действий такой терапии, если, по мнению исследователя, это клинически значимо.
5
- Пациент с первичной опухолью в CNS.
- Клинически значимое неконтролируемое сердечно-сосудистое заболевание, включая инфаркт миокарда в течение 3 месяцев до дня 1 цикла 1, нестабильную стенокардию, серьезные заболевания клапанов или перикарда, желудочковую тахикардию в анамнезе, симптоматическую застойную сердечную недостаточность (CHF) III-IV классов согласно классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA) и тяжелую неконтролируемую артериальную гипертензию, согласно заключению исследователя.
10
- Сохраняющийся с течением времени интервал QT, скорректированный с использованием формулы Фридеричии (QTcF) >470 мс; наличие в личном или семейном анамнезе синдрома удлиненного интервала QT или наличие в анамнезе пируэтной тахикардии (Torsades de pointes, TdP). Наличие в анамнезе неконтролируемых и стойких факторов риска развития TdP (например, сердечной недостаточности, гипокалиемии, приема сопутствующих препаратов, удлиняющих интервал QT/QTc, несмотря на оптимальное лечение).
15
- Текущая активная инфекция, вызванная ВИЧ, вирусом гепатита В или вирусом гепатита С.
- Документально подтвержденный анамнез интерстициального заболевания легких или признаки текущего интерстициального заболевания легких, требующего приема стероидных препаратов.
20
- Клинически значимая патология желудочно-кишечного тракта, которая, по мнению исследователя, может влиять на абсорбцию лекарственного средства.
- Клинически значимые заболевания, влияющие на функцию пищеварения (включая хроническую диарею), которые, по мнению исследователя, могут влиять на терапию с использованием исследуемого лекарственного средства.
25
- Лечение сильными ингибиторами СYP3A4 в течение 1 недели (7 дней) до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства.
30

- Повторное лечение сильными индукторами СУРЗА4 в течение 3 недель (21 дня) до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства.
- Известная гиперчувствительность к вспомогательным веществам, присутствующим в препарате HM06/TAS0953.
- 5 ○ Любая болезнь или медицинское состояние, которые, по мнению исследователя, могут исказить результаты исследования или создавать неоправданные риски при введении исследуемого продукта пациенту.
 - Фаза I с эскалацией дозы – Специфические критерии исключения:
 - Пациент с симптоматическими метастазами в ЦНС на исходном уровне.
- 10 ○ Фаза I с расширением дозы – Специфические критерии исключения:
 - Пациент с симптоматическими метастазами в головной мозг и/или лептоменингеальными метастазами на исходном уровне, не контролируемые с помощью местной и/или системной терапии.
 - Наличие известных мутаций, активирующих EGFR, KRAS, ALK, HER2, ROS1, BRAF и METex14.
- 15 ○ Фаза II. Общие критерии исключения для когорт 1-3:
 - Кормящая женщина.
 - Применение исследуемых агентов или противораковой терапии в пределах 5 периодов полувыведения (или 1 периода полувыведения для лекарственных
- 20 средств длительного действия, таких как противораковые антитела или другие биологические лекарственные средства, при условии отсутствия остаточной токсичности) до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства.
- Серьезное хирургическое вмешательство (за исключением установки сосудистого доступа) в течение 4 недель до введения первой дозы исследуемого
- 25 лекарственного средства или запланированное серьезное хирургическое вмешательство во время проведения исследуемого лечения.
- Пациент, которого подвергали WBRT в течение 14 дней или другой паллиативной лучевой терапии в течение 7 дней до введения первой дозы
- исследуемого лекарственного средства, или который еще не восстановился от
- 30 побочных действий такой терапии, если, по мнению исследователя, это клинически значимо.
- Пациент с первичной опухолью в CNS.

- Пациент с симптоматическими метастазами в головной мозг и/или лептоменингеальными метастазами на исходном уровне, не контролируемые с помощью местной и/или системной терапии.
- Клинически значимое неконтролируемое сердечно-сосудистое заболевание, включая инфаркт миокарда в течение 3 месяцев до дня 1 цикла 1, нестабильную стенокардию, серьезные заболевания клапанов или перикарда, желудочковую тахикардию в анамнезе, симптоматическую застойную сердечную недостаточность (CHF) III-IV классов согласно классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA) и тяжелую неконтролируемую артериальную гипертензию, согласно заключению Исследователя.
- Сохраняющийся с течением времени интервал QT, скорректированный с использованием формулы Фридеричии (QTcF) >470 мс; наличие в личном или семейном анамнезе синдрома удлиненного интервала QT или наличие в анамнезе пируэтной тахикардии (Torsades de pointes, TdP). Наличие в анамнезе неконтролируемых и стойких факторов риска развития TdP (например, сердечной недостаточности, гипокалиемии, приема сопутствующих препаратов, удлиняющих интервал QT/QTc, несмотря на оптимальное лечение).
- Текущая активная инфекция, вызванная ВИЧ, вирусом гепатита В или вирусом гепатита С.
- Документально подтвержденный анамнез интерстициального заболевания легких или признаки текущего интерстициального заболевания легких, требующего приема стероидных препаратов.
- Клинически значимая патология желудочно-кишечного тракта, которая, по мнению исследователя, может влиять на абсорбцию лекарственного средства.
- Клинически значимые заболевания, влияющие на функцию пищеварения (включая хроническую диарею), которые, по мнению исследователя, могут влиять на терапию с использованием исследуемого лекарственного средства.
- Лечение сильными ингибиторами CYP3A4 в течение 1 недели (7 дней) до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства.
- Повторное лечение сильными индукторами CYP3A4 в течение 3 недель (21 дня) до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства.
- Известная гиперчувствительность к вспомогательным веществам, присутствующим в препарате HM06/TAS0953.

○ Любая болезнь или медицинское состояние, которые, по мнению исследователя, могут исказить результаты исследования или создавать неоправданные риски при введении исследуемого продукта пациенту.

• Фаза II. Когорта 1 – Специфические критерии исключения:

5 ○○ Наличие известных мутаций, активирующих EGFR, KRAS, ALK, HER2, ROS1, BRAF и METex14.

• Фаза II. Когорта 2 – Специфические критерии исключения:

○ Наличие известных мутаций, активирующих EGFR, KRAS, ALK, HER2, ROS1, BRAF и METex14.

10 • Фаза II. Когорта 2 – Специфические критерии исключения:

○ Отсутствуют.

Введение лекарственного средства:

15 Для клинического применения HM06/TAS0953 получали в виде гидрохлорида (HM06-01/TAS0953-01). Продукт приготавливали в форме таблеток для орального введения. Исследования проводили с использованием таблеток, содержащих дозу 10 и 50 мг/таблетку (в пересчете на свободное основание). Предполагаемые условия хранения – в охлажденном состоянии (контролируемая температура от 2 до 8°C [от 36 до 46°F]).

20 Таблетки HM06/TAS0953 следует принимать орально дважды в день (примерно каждые 12 часов) натощак (т.е. не следует принимать пищу в промежутке между 2 ч до и 1 ч после введения лекарственного средства), обеспечивая дозу 20 мг (начальная доза) BID.

Пример 13. Продолжение части фазы I исследования с эскалацией дозы с переходом на уровень дозы 320 мг BID

25 В то время как часть фазы I исследования с эскалацией дозы все еще продолжается, информация о безопасности, полученная в ходе первого цикла лечения пациентов, которым вводили 160 мг BID, позволила увеличить дозу до уровня 320 мг BID. Этот процесс соответствует протоколу исследования, изложенному выше в примере 12, а именно, когда доступны данные о
30 безопасности, полученные в первом цикле лечения пациентов, набранных в соответствии с протоколом для оценки определенного уровня дозы, проводится заседание Комитета по надзору за безопасностью (SRC) для эскалации дозы. Как указано выше в примере 12, максимальная доза, предназначенная для введения в

этом исследовании, может находиться в диапазоне от 500 мг BID до 1500 мг BID.

Пример 14. Эффективность HM06/TAS0953 на клеточном уровне в отношении мутаций фронта растворителя (Solvent Front-мутации) RET

5 Хотя селективные ингибиторы NET LOXO-292 (селперкатиниб) и BLU-667 (пралсетиниб) обладают клинической противоопухолевой активностью в отношении немелкоклеточного рака легких, обнаружено, что может возникнуть приобретенная устойчивость, обусловленная Solvent Front-мутациями RET. (например, RET^{G810R/S/C}). (См. Subbiah V. и др., Ann Oncol., 32(2), 2021, сс. 261-10 268; Lin J.J. и др., Ann Oncol., 31(12), 2020, сс. 1725-1733; Solomon B.J. и др., J Thorac Oncol. 15(4), 2020, сс. 541-549; Fancelli S. и др., Cancers (Basel), 13(5), 2021, с. 1091. doi: 10.3390/cancers13051091). В настоящее время отсутствуют какие-либо варианты лечения таких пациентов в таких случаях при рецидиве после лечения селперкатинибом или пралсетинибом.

15 Проводили исследования эффективности на клеточном уровне в отношении слияний RET дикого типа и мутаций RET, включая Gatekeeper-мутации V804L/M и обуславливающие устойчивость к селперкатинибу или пралсетинибу мутации G810R/S, на сконструированных клетках линии Ba/F3.

20 Указанные клетки культивировали из расчета примерно 1000 клеток/лунку в 96-луночных планшетах и обрабатывали HM06/TAS0953, вандетанибом, BLU-667 или LOXO-292 в течение 72 ч (при 37°C в течение 3 дней). Жизнеспособность клеток оценивали по люминесценции с помощью анализа CellTiter-Glo 2.0 (фирма Promega Corporation). Величину GI₅₀ (концентрация, обеспечивающая ингибирование роста на 50% по сравнению с не обработанными 25 соединением контролями) рассчитывали с использованием сигмовидной модели зависимости доза-ответ с помощью программного обеспечения XLfit (фирма ID Business Solutions). Результаты представляли в виде среднего значения ± SD данных, полученных в трех независимых экспериментах.

30 Величины IC₅₀ представлены в таблице 5. Установлено, что клетки Ba/F3 KIF5B-RET^{G810R/S} обладали устойчивостью не только к BLU-667, но также и к LOXO-292. Однако клетки Ba/F3 KIF5B-RET^{G810R/S} обладали чувствительностью к HM06/TAS0953.

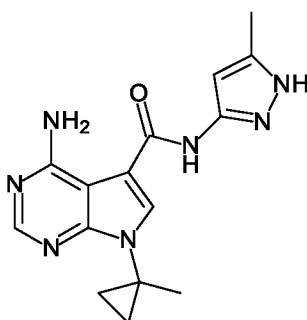
Кроме того, клетки Ва/Ф3 KIF5B-RET^{V804L/M} обладали чувствительностью к HM06/TAS0953, BLU-667 и LOXO-292, но не к вандетанибу.

Таблица 5

Линия клеток	Величины GI ₅₀ (нмоли/л)			
	HM06/TAS0953	Вандетаниб	BLU-667	LOXO-292
Ва/Ф3	>10000	7490 ± 1560	1350 ± 250	3980 ± 470
Ва/Ф3 KIF5B-RET	8,27 ± 1,29	209 ± 76	6,51 ± 2,13	6,68 ± 0,76
Ва/Ф3 KIF5B-RET V804L	21,5 ± 4,4	4050 ± 485	7,18 ± 3,15	7,13 ± 1,50
Ва/Ф3 KIF5B-RET V804M	39,7 ± 4,6	3380 ± 246	8,60 ± 0,58	33,3 ± 2,9
Ва/Ф3 KIF5B-RET G810R	43,8 ± 18,3	3760 ± 460	1140 ± 300	1020 ± 200
Ва/Ф3 KIF5B-RET G810S	11,9 ± 3,6	2880 ± 420	50,6 ± 31,4	166 ± 20

5 Для облегчения понимания механизма, посредством которого мутанты RETG810R/S сохраняют чувствительность к HM06/TAS0953, проводили исследования кристаллических структур домена RET-киназы, входящего в комплекс с соединением TAS 1 (имеющим структуру, аналогичную HM06/TAS0953), BLU-667 и LOXO-292. Рентгенографическое исследование кристаллических структур комплексом позволило установить, что соединение TAS 1 обладает уникальной формой связывания с RET по сравнению с BLU-667 и LOXO-292. На основе данных о структурах кокристаллов, представленных на фиг. 12А, установлено, что BLU-667 и LOXO-292 связываются с одним и тем же карманом в RET (карман Б), в то время как соединение TAS 1 связывается с другим карманом в RET (карман А) с другой формой связывания. Соединение TAS 1 не заполняет пространство в направлении боковой цепи G810, это позволяет предположить, что HM06/TAS0953 может эффективно преодолевать стерическую помеху, создаваемую Solvent Front-заместителями. Эта особенность, по-видимому, способствует способности HM06/TAS0953 сохранять свою биологическую активность при наличии мутаций G810.

Структурная формула соединения TAS 1:



На фиг. 12Б и 12В представлены полученные при структурном анализе увеличенные изображения содержащих RET кокристаллических комплексов в области аминокислотных остатков 806-810 RET. На фиг. 12Б представлены кокристаллические комплексы RET и соединения 1 TAS, BLU-667 и LOXO-292, а на фиг. 12В представлен кокристаллический комплекс RET и соединения 1 TAS. Глицин в положении 810 находится вблизи и к BLU-667, и к LOXO-292, и замена в этом положении может влиять на стерическую помеху указанным ингибиторам. В отличие от этого соединение 1 TAS не входит в карман, состоящий из аминокислотных остатков 806-810.

Эти данные согласуются с биологическими данными, свидетельствующими о том, что схемы ингибирования мутации RET (например, G810R/S) HM06/TAS0953 и BLU-667/LOXO-292 отличаются друг от друга.

Пример 15. Фармакологическая эффективность HM06/TAS0953 в отношении RET-мутантов

Чувствительность различных мутаций RET, включая Solvent Front-мутации KIF5B-RET^{G810R/A/C/D/S}, к HM06/TAS0953, BLU-667 и LOXO-292 изучали на кратковременно трансфектированных клетках HEK293 с помощью анализа фосфорилирования KIF5B-RET методом In-Cell WesternTM (ICW). Величины IC₅₀ рассчитывали по результатам трех отдельных экспериментов, данные обобщены в приведенной ниже таблице 6.

Установлено, что эффективность HM06/TAS0953 в отношении KIF5B-RET дикого типа эквивалентна эффективности BLU-667 и LOXO-292. Схема мутаций RET, ингибируемых HM06/TAS0953, оказалась отличной от схем, которые ингибировались LOXO-292 и BLU-667. Ингибирование HM06/TAS0953 мутаций G810X характеризовалось величинами IC₅₀ HM06/TAS0953, которое подавляло фосфорилирование RET^{G810X}, находящимися в диапазоне от 35,4 до 282 нмоль/л. Эффективность HM06/TAS0953 в отношении мутаций G810X оказалась выше эффективности BLU-667 и LOXO-292. Кроме того, эффективность HM06/TAS0953 в отношении L730X, G736A, L760Q, L772M, Y806C и A883V также оказалась выше эффективности BLU-667 и LOXO-292, в то время как эффективность HM06/TAS0953 в отношении I788N и L865V оказалась ниже эффективности BLU-667 и LOXO-292. Полученные данные позволяют предположить, что HM06/TAS0953 может обладать эффективностью

в отношении точечных мутаций KIF5B-RET, обуславливающих устойчивость к другим ингибиторам RET, таким как LOXO-292 и/или BLU-667.

Создание экспрессионного вектора

Экспрессионный вектор создавали с использованием технологии Gateway.

5 Сначала конструировали исходный вектор (pENTR/KIF5B-RET) с использованием ПЦР-продуктов KIF5B-RET, вектора pDONR 221 (фирма Invitrogen Corporation) и смеси ферментов клоназ Gateway BP (фирма Invitrogen Corporation). Затем конструировали экспрессионный вектор KIF5B-RET с использованием исходного вектора, экспрессионного вектора pJTI FAST KO2-
10 PuroR, который модифицировали на фирме Taiho Pharmaceutical Co., Ltd. с использованием экспрессионного вектора pJTI-FAST DEST (фирма Thermo Fisher Scientific) смеси ферментов клоназ Gateway LR (фирма Invitrogen Corporation).

Метод In-Cell Western™

15 Клетки Jump-In GripTite HEK293 кратковременно трансфектировали экспрессионным вектором KIF5B-RET с использованием TransIT-X2 (фирма Mirus Bio LLC.). После обработки каждым тестируемым соединением в различных концентрациях в течение 1 ч клетки фиксировали с использованием 20%-ного нейтрального буферного раствора формалина. Затем микропланшеты
20 блокировали блокирующим буфером Intercept® (ЗФР) (фирма LI-COR Inc.) в течение 1 ч при комнатной температуре и инкубировали в течение ночи при 4°C с первичными антителами (антитело к фосфо-RET (Tyr905) (каталожный номер 3221, фирма Cell Signaling Technology, Inc.) и антитело к RET (каталожный номер sc-101422, фирма Santa Cruz Biotechnology, Inc.), разведенными в
25 блокирующем буфере Intercept® (ЗФР). Затем микропланшеты промывали и инкубировали с вторичными антителами (козье антикроличье антитело IRDye 800CW и козье антимышиное антитело IRDye 680RD) (фирма LI-COR Inc.).

После промывки микропланшетов применяли систему визуализации Odyssey CLx (фирма LI-COR Inc.) для количественной оценки флуоресценции в
30 каждой лунке. Величину T/C (%) определяли следующим образом:

$$\frac{(\text{средний сигнал от тестируемого соединения})/(\text{средний сигнал от контроля})}{\times 100}$$

Средний сигнал: (флуоресценция фосфо-RET – фон)/(флуоресценция RET – фон)

Величину IC₅₀ рассчитывали на основе аппроксимации зависимости T/C (%) от концентрации кривой с помощью программы XLFit. Величину IC₅₀

5 определяли по результатам трех независимых экспериментов.

Таблица 6 – Обобщение результатов определения величин IC₅₀

Ген	Величины IC ₅₀ (нмоли/л)		
	HM06/TAS0953	BLU-667	LOXO-292
KIF5B-RET	80,2 ± 14,7	74,5 ± 14,0	76,9 ± 18,0
KIF5B-RET_L730Q	60,2 ± 14,3	180 ± 28	546 ± 113
KIF5B-RET_L730R	53,8 ± 14,6	1570 ± 330	>3000
KIF5B-RET_E732K	70,1 ± 24,5	113 ± 53	65,6 ± 18,5
KIF5B-RET_G736A	20,7 ± 5,8	1060 ± 200	147 ± 40
KIF5B-RET_M759I	12,3 ± 3,5	11,6 ± 6,6	23,9 ± 4,4
KIF5B-RET_L760Q	27,1 ± 7,0	259 ± 53	228 ± 81
KIF5B-RET_E768Q	17,1 ± 5,3	24,2 ± 18,4	23,1 ± 10,1
KIF5B-RET_L772M	18,7 ± 3,2	43,6 ± 8,7	24,2 ± 3,9
KIF5B-RET_I788N	1640 ± 250	37,0 ± 6,0	28,0 ± 7,2
KIF5B-RET_Y806C	153 ± 25	457 ± 68	536 ± 75
KIF5B-RET_L865V	433 ± 171	60,6 ± 21,4	73,7 ± 29,8
KIF5B-RET_A883V	55,4 ± 9,5	371 ± 115	46,2 ± 16,7
KIF5B-RET_G810A	35,4 ± 5,6	125 ± 13	1330 ± 10
KIF5B-RET_G810C	282 ± 51	1520 ± 300	>3000
KIF5B-RET_G810D	179 ± 108	640 ± 312	>2670
KIF5B-RET_G810S	42,6 ± 4,7	232 ± 66	>2220
KIF5B-RET_G810R	149 ± 39	>3000	>3000

Пример 16. Оценка противоопухолевых воздействий HM06/TAS0953 на голых мышах, которым подкожно имплантировали клетки Ba/F3 KIF5B-RET^{G810R}

10 На созданной на животных модели опухоли, содержащей KIF5B-RET^{G810R}, установлено, что HM06/TAS0953 обладало значительным противоопухолевым действием и выраженным ингибированием мишени, это позволяет предположить, что HM06/TAS0953 может обладать эффективностью в отношении лечения опухолей, несущих ген KIF5B-RET с мутацией G810R. При 15 применении в низких дозах, таких как 10 мг/кг дважды в день, HM06/TAS0953 существенно ингибировал рост опухоли и фосфо-RET. Установлено, что помимо его высокой селективной эффективности в отношении RET дикого типа, HM06/TAS0953 обладало значительной эффективностью в отношении Solvent Front-мутации G810R, обуславливающей высокую устойчивость *in vitro* и *in vivo* 20 к селперкатинобу и пралсетинибу.

В первом исследовании клетки Ba/F3 KIF5B-RET^{G810R} (5×10^6 клеток/мышь) суспендировали в 50%-ном матригеле (фирма Corning

Incorporated)/ЗФР и имплантировали подкожно самцам бестимусных голых мышей (BALB/cAJcl-nu/nu, фирма CLEA Japan, Inc.). HM06/TAS0953, LOXO-292 и BLU-667 приготавливали в 0,5% (мас./об.) НРМС (фирма Shin-Etsu Chemical Co., Ltd.) с 0,1 моля/л HCl. Через 1 неделю после имплантации мышей разделяли случайным образом на различные группы обработки с равным средним объемом опухоли в каждой группе, и вводили орально наполнитель (bid), HM06/TAS0953 (10, 30 мг/кг, bid), LOXO-292 (10, 30 мг/кг, bid) или BLU-667 (10, 30 мг/кг, bid) в течение 14 дней. Группа, которой вводили в качестве наполнителя 0,5% (мас./об.) НРМС с 0,1 моля/л HCl, представляла собой контрольную группу.

Длину и ширину опухолей измеряли с помощью цифрового штангенциркуля (фирма Mitutoyo) и рассчитывали объем опухоли следующим образом: [длина × (ширина)²]/2. Объем опухоли и вес тела мышей измеряли дважды в неделю вплоть до конца исследования.

Статистическую значимость определяли с использованием критерия Даннета, сравнивая объем опухоли в обработанных группах с объемом опухоли в контрольной группе. Статистический анализ проводили с помощью версии 10.0 EXSUS (фирма SAS Exicare Corporation), входящей в пакет программ SAS, версия 9.4 (фирма SAS Institute Japan). Р-значения, меньшие 0,05 свидетельствовали о статистической значимости полученного результата.

На фиг. 13А и 13Б проиллюстрированы воздействия на объем опухоли соединений HM06/TAS0953, LOXO-292 и BLU-667, каждое из которых вводили дважды в день в низкой дозе, составляющей 10 мг/кг (фиг. 13А), и в высокой дозе, составляющей 30 мг/кг (фиг. 13Б). Результаты представлены в виде среднего значения ± SE (для каждой группы, n=5). Как продемонстрировано на фиг. 13А, среди групп, которые обрабатывали низкой дозой, только в группе, которую обрабатывали HM06/TAS0953 в дозе 10 мг/кг, обнаружено значимое уменьшение объема опухоли в конце исследования по сравнению с контрольной группой (* обозначает $p < 0,05$; критерий Даннета). Как продемонстрировано на фиг. 13Б, в конце исследования объем опухоли в каждой из групп, обработанных высокой дозой, был меньше, чем в контрольной группе (*обозначает $p < 0,05$; критерий Даннета). Кроме того, как продемонстрировано на фиг. 13Б, в конце исследования только в группе, которую обрабатывали HM06/TAS0953 в дозе 30 мг/кг, не обнаружен повторный рост опухоли, в то время как в группах, которые

обрабатывали LOXO-292 и BLU-667, выявлена тенденция к повторному росту опухоли параллельно с контрольной группой. На фиг. 13В проиллюстрировано воздействие указанных выше доз на вес тела в течение периода обработки. Не обнаружено значимых изменений веса тела мышей между группами. Результаты
5 представлены в виде среднего значения \pm SE (для каждой группы, n=5). Одна мышь в группе, которую обрабатывали BLU-667 в дозе 30 мг/кг, погибла по не зависящим от эксперимента причинам.

Во втором исследовании клетки Ba/F3 KIF5B-RET^{G810R} (5×10^6 клеток/мышь) суспендировали в 50%-ном матрикеле (фирма Corning Incorporated)/ЗФР и имплантировали подкожно самцам 6-недельного возраста бестимусных голых мышей (BALB/cAJcl-nu/nu, фирма CLEA Japan, Inc.).
10 HM06/TAS0953, LOXO-292 и BLU-667 приготавливали в 0,5% (мас./об.) НРМС (фирма Shin-Etsu Chemical Co., Ltd.) с 0,1 моля/л HCl. Через 5 дней после имплантации мышей разделяли случайным образом на различные группы
15 обработки с равным средним объемом опухоли в каждой группе, и вводили орально наполнитель (bid), HM06/TAS0953 (50 мг/кг, bid), LOXO-292 (30 мг/кг, bid) или BLU-667 (30 мг/кг, bid) в течение 14 дней. Группа, которой вводили в качестве наполнителя 0,5% (мас./об.) НРМС с 0,1 моля/л HCl, представляла собой контрольную группу. Длину и ширину опухолей измеряли с помощью
20 цифрового штангенциркуля (фирма Mitutoyo) и рассчитывали объем опухоли следующим образом: [длина \times (ширина)²]/2. Объем опухоли и вес тела мышей измеряли дважды в неделю вплоть до конца исследования.

Статистическую значимость определяли с использованием критерия Даннета при сравнении объема опухоли (TV) в обработанных группах с объемом
25 опухоли в контрольной группе. Статистический анализ проводили с помощью версии 10.0 EXSUS (фирма SAS Exicare Corporation), входящей в пакет программ SAS, версия 9.4 (фирма SAS Institute Japan). P-значения, меньшие 0,05, свидетельствовали о статистической значимости.

На фиг. 14А продемонстрированы воздействия HM06/TAS0953, LOXO-292
30 и BLU-667 на объем опухоли, в этом случае HM06/TAS0953 вводили дважды в день в дозе 50 мг/кг, а соединения LOXO-292 и BLU-667 каждое вводили дважды в день в дозе 30 мг/кг. Результаты представлены в виде среднего значения \pm SE (для каждой группы, n=5). Средний объем опухоли в день 15 в

обработанных соединением группам оказался значимо меньше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$, критерий Даннета). Кроме того, средний объем опухоли в день 15 в обработанной HM06/TAS0953 группе оказался значимо меньше, чем в группах, обработанных LOXO-292 и BLU-667 (в каждом случае $p < 0,05$, критерий Тьюки). В то время как в группах, обработанных LOXO-292 и BLU-667, в день 15 выявлена тенденция к повторному росту опухоли, в группе, обработанной HM06/TAS0953, обнаружен стойкий регресс опухоли. На фиг. 14Б проиллюстрированы воздействия доз на вес тела в течение периода обработки. Не обнаружено значимых изменений веса тела между группами. Результаты представлены в виде среднего значения \pm SE (для каждой группы, $n=5$).

С помощью Вестерн-блоттинга оценивали ингибирующее действие HM06/TAS0953, LOXO-292 и BLU-667 на фосфорилирование RET в опухолях Ba/F3 KIF5B-RET^{G810R} через 1 ч после введения. Мышам, несущим Ba/F3 KIF5B-RET^{G810R}, вводили однократно орально HM06 в дозе 10, 30 или 50 мг/кг или LOXO292 и BLU667 в дозе 10 или 30 мг/кг соответственно. Через 1 ч после дозирования опухоли собирали и лизировали. Осуществляли иммуноблоттинг клеточных лизатов для обнаружения фосфорилированного RET (pRET), RET и GAPDH (контроль). Как продемонстрировано на Вестерн-блотах, представленных на фиг. 15А (первый эксперимент) и 15Б (второй эксперимент), в группе, обработанной HM06/TAS0953, обнаружено выраженное снижение фосфорилирования RET по сравнению с контрольной группой, в то время как в группах, обработанных LOXO-292 и BLU-667 снижение было небольшим.

Вестерн-блоттинг осуществляли в каждом из двух описанных выше экспериментов. Опухоли собирали через 1 ч после обработки. Опухолевую ткань лизировали с использованием концентрата разбавителя для образца 2 (Sample Diluent Concentrate 2, фирма R&D Systems), дополненного мини-коктейлем ингибиторов протеаз cOmpleteTM, (фирма Roche Applied Science) и коктейлем ингибиторов протеаз PhosSTOPTM (фирма Roche Applied Science). Лизат подвергали ДСН-ПААГ и переносили на ПДВФ-мембрану (система для блоттинга Trans-Blot turbo; фирма Bio-rad). Затем мембрану блокировали с использованием реагента Blocking One-P (фирма Nacalai Tesque Inc.) и инкубировали в течение ночи при 4°C с первичными антителами. В качестве первичных антител применяли антитело к Phospho-Ret (Tyr905) (№ 3221, фирма

Cell Signaling Technology), кроличье МАт к Ret (C31B4) (№ 3223, Cell Signaling Technology) и кроличье МАт к GAPDH (D16H11) XP® (№ 5174, Cell Signaling Technology). Затем мембрану промывали, инкубировали с вторичным антителом (№ 7074, фирма Cell Signaling Technology) в течение 1 ч при комнатной

5 температуре и снова промывали. Хемилюминесцентные изображения получали с помощью анализатора люминесцентных изображений (Amersham™ Imager 600 QC, GE Healthcare Japan Corporation). GAPDH применяли в качестве внутреннего контроля.

Эквиваленты

10 Приведенное выше письменное описание является достаточным для того, чтобы специалист в данной области мог осуществлять на практике варианты осуществления изобретения. В приведенном выше описании и примерах дано подробное изложение конкретных вариантов осуществления изобретения и описана наилучшая форма реализации, предлагаемая авторами изобретения.

15 Однако должно быть очевидно, что независимо от того, насколько подробно вышеуказанное описано в тексте, вариант осуществления изобретения может быть реализован многими путями и его следует рассматривать в контексте прилагаемой формулы изобретения и любых ее эквивалентов.

В контексте настоящего описания понятие «примерно» относится к
20 численному значению, включающему, например, целые числа, дроби и проценты, независимо от того, указано это явно или нет. Понятие «примерно», как правило, относится к диапазону численных значений (например, $\pm 5-10\%$ от указанного диапазона), которые обычный специалист в данной области может рассматривать как эквивалентные приведенному значению (например,
25 выполняющими ту же функцию или дающими тот же результат). Когда такие понятия, как «по меньшей мере» и «примерно», предшествуют списку численных значений или диапазонов, эти понятия модифицируют все значения или диапазоны, указанные в списке. В некоторых случаях понятие «примерно» может включать численные значения, округленные до ближайшей значимой
30 численной величины.

ПЕРВОНАЧАЛЬНАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения больного человека, страдающего немелкоклеточным раком легкого (NSCLC) с аномалией гена RET, который включает введение
5 больному человеку композиции, содержащей 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 40 мг до примерно 3000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-
10 морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид в форме свободного основания.

2. Способ лечения больного человека, страдающего местнораспространенным или метастатическим немелкоклеточным раком
15 легкого (NSCLC) с аномалией гена RET, который включает введение больному человеку композиции, содержащей 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 40 мг до примерно 1000 мг 4-амино-N-[4-
20 (метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид в форме свободного основания.

3. Способ лечения больного человека, страдающего метастатическим немелкоклеточным раком легкого (NSCLC) с аномалией гена RET с метастазами
25 в головной мозг и/или лептоменингеальными метастазами, который включает введение больному человеку композиции, содержащей 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид, в котором больному человеку вводят в эффективном количестве 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-
30 метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид.

4. Способ по п. 3, в котором эффективное количество представляет собой суточную дозу, эквивалентную от примерно 40 мг до примерно 3000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид в форме свободного основания.

5. Способ по п. 3 или п. 4, в котором метастазы в головной мозг и/или лептоменингеальные метастазы являются бессимптомными.

6. Способ лечения больного человека с солидной опухолью с аномалией гена RET, который включает введение больному человеку композиции, содержащей 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 40 мг до примерно 3000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид в форме свободного основания.

7. Способ лечения больного человека с солидной опухолью с аномалией гена RET, который включает введение больному человеку композиции, содержащей 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид, в котором аномалия гена RET приводит к мутации фронта растворения белка RET.

8. Способ лечения больного человека с солидной опухолью с аномалией гена RET с метастазами в головной мозг и/или лептоменингеальными метастазами, который включает введение больному человеку композиции, содержащей 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид, в котором больному человеку вводят в эффективном количестве 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамид.

9. Способ по п. 7 или п. 8, в котором эффективное количество представляет собой суточную дозу, эквивалентную от примерно 40 мг до примерно 3000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

10. Способ по п. 8 или п. 9, в котором метастазы в головной мозг и/или лептоменингеальные метастазы являются бессимптомными.

10 11. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 150 мг до примерно 640 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

15 12. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 640 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

20 13. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 320 мг до примерно 640 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

25 14. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 480 мг до примерно 640 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

30

15. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную примерно 640 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

5

16. Способ по одному из п.п. 1-10, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 480 мг до примерно 3000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

10

17. Способ по одному из п.п. 1-10 и 16, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 480 мг до примерно 2000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

15

18. Способ по одному из п.п. 1-10, 16 и 17, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 480 мг до примерно 1500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

20

19. Способ по одному из п.п. 1-10 и 16-18, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 480 мг до примерно 1280 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

25

20. Способ по одному из п.п. 1-10 и 16-19, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 480 мг до примерно 1000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-

30

морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

21. Способ по одному из п.п. 1-10 и 16, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 640 мг до примерно 3000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

22. Способ по одному из п.п. 1-10, 16, 17 и 21, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 640 мг до примерно 2000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

23. Способ по одному из п.п. 1-10, 16-18 и 20-22, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 640 мг до примерно 1500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

24. Способ по одному из п.п. 1-10, 16-18 и 21-23 в котором, больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 640 мг до примерно 1280 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

25. Способ по одному из п.п. 1-10, 16-24, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 640 мг до примерно 1000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

26. Способ по одному из п.п. 1-10, 16 и 21, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную 3000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

5

27. Способ по одному из п.п. 1-10, 16, 17, 21 и 22, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную 2000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

10

28. Способ по одному из п.п. 1-10, 16-18 и 21-23, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную 1500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

15

29. Способ по одному из п.п. 1-10, 16-19 и 21-24, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную 1280 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

20

30. Способ по одному из п.п. 1-10 и 16-25, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную 1000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

25

31. Способ по одному из п.п. 1-11, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 150 мг до примерно 500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

30

32. Способ по одному из п.п. 1-12 и 31, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 500 мг

4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

5 33. Способ по одному из п.п. 1-11 и 31, в котором больному человеку вводят суточную дозу, эквивалентную от примерно 150 мг до примерно 160 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

10 34. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором композицию вводят орально.

15 35. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором композицию вводят орально в виде одной таблетки или нескольких таблеток.

20 36. Способ по п. 35, в котором каждая таблетка содержит дозу, эквивалентную примерно 10 или примерно 50 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания.

25 37. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором композиция содержит дигидрохлорид 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида.

30 38. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором композиция содержит дополнительно лимонную кислоту, микрокристаллическую целлюлозу, лактозу, поливинил-N-пирролидон, лаурилсульфат натрия и/или глицерилбегенат.

39. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором композицию вводят один раз в день (QD) или дважды в день (BID).

40. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором композицию вводят дважды в день (BID).

5 41. Способ по одному из п.п. 1-10 и 34-40, в котором больному человеку вводят дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 1500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, дважды в день (BID).

10 42. Способ по одному из п.п. 1-10 и 34-41, в котором больному человеку вводят дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 1000 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, дважды в день (BID).

15

43. Способ по одному из п.п. 1-10 и 34-42, в котором больному человеку вводят дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 750 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, дважды в день (BID).

20

44. Способ по одному из п.п. 1-10 и 34-43, в котором больному человеку вводят дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 640 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, дважды в день (BID).

25

45. Способ по одному из п.п. 1-10 и 34-44, в котором больному человеку вводят дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, дважды в день (BID).

30

46. Способ по одному из п.п. 1-13 и 34-45, в котором больному человеку вводят дозу, эквивалентную от примерно 160 мг до примерно 320 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, дважды в день (BID).

47. Способ по одному из п.п. 1-25 и 34-46, в котором больному человеку вводят дозу, эквивалентную примерно 320 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, дважды в день (BID).

48. Способ по одному из п.п. 1-10, 16-25, 30 и 34-45, в котором больному человеку вводят дозу, эквивалентную примерно 500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, дважды в день (BID).

49. Способ по одному из п.п. 1-10, 16-19, 21-24 и 34-44, в котором больному человеку вводят дозу, эквивалентную примерно 640 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, дважды в день (BID).

50. Способ по одному из п.п. 1-10, 16-18, 21-23, 28 и 34-43, в котором больному человеку вводят дозу, эквивалентную примерно 750 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, дважды в день (BID).

51. Способ по одному из п.п. 1-10, 16, 17, 21, 22, 27 и 34-42, в котором больному человеку вводят дозу, эквивалентную примерно 1000 мг 4-амино-N-[4-

(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, дважды в день (BID).

5 52. Способ по одному из п.п. 1-10, 16, 21, 26 и 34-41, в котором больному человеку вводят дозу, эквивалентную примерно 1500 мг 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамида в форме свободного основания, дважды в день (BID).

10

53. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором пациенту весом более 50 кг и пациенту весом менее 50 кг вводят одинаковую дозу.

15

54. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором композицию вводят по меньшей мере в течение одного 21-дневного цикла лечения.

20

55. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором аномалия гена RET включает по меньшей мере одну из следующих аномалий: слияние гена RET, точечную мутацию, делеционную мутацию, увеличение количества копий гена RET, сверхэкспрессию любой одной или нескольких аномалий и сверхэкспрессию гена RET.

25

56. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором аномалия гена RET включает слияние гена RET.

57. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором аномалия гена RET включает слияние гена RET с геном, кодирующим CCDC6, KIF5B или TRIM33.

30

58. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором аномалия гена RET включает мутацию, обуславливающую устойчивость белка RET.

59. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором аномалия гена RET приводит к мутации фронта растворения белка RET и/или мутации в шарнирной области белка RET.

5 60. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором аномалия гена RET приводит к мутации белка RET в аминокислотном остатке 730, 736, 760, 772, 804, 806, 807, 808, 809, 810 и/или 883.

10 61. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором аномалия гена RET приводит к мутации белка RET в аминокислотном остатке 804, 806, 807, 808, 809 и/или 810.

62. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором аномалия гена RET приводит к мутации белка RET в аминокислотном остатке 810.

15 63. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором аномалия гена RET приводит к мутации белка RET, включающей:

а) мутацию V804X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от валина или глутаминовой кислоты;

20 б) мутацию Y806X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от тирозина;

в) мутацию A807X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от аланина;

25 г) мутацию K808X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от лизина;

д) мутацию Y809X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от тирозина; и/или

е) мутацию G810X, где X обозначает любую аминокислоту, отличную от глицина.

30 64. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором аномалия гена RET приводит к мутации белка RET, включающей:

а) мутацию L730Q или L730R;

- б) мутацию G736A;
- в) мутацию L760Q;
- г) мутацию L772M;
- д) мутацию V804L или V804M;
- 5 е) мутацию Y806C, Y806S, Y806H или Y806N;
- ж) мутацию G810R, G810S, G810C, G810V, G810D или G810A; и/или
- з) мутацию A883V.

10 65. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором аномалия гена RET приводит к мутации белка RET, включающей:

- а) мутацию V804L или V804M;
- б) мутацию Y806C, Y806S, Y806H или Y806N; и/или
- в) мутацию G810R, G810S, G810C, G810V, G810D или G810A.

15 66. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором аномалия гена RET приводит к мутации G810R, G810S, G810C, G810V, G810D или G810A белка RET.

20 67. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором аномалия гена RET приводит к мутации G810R белка RET.

25 68. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором рак или опухоль обладает устойчивостью по меньшей мере к одному мультикиназному ингибитору.

69. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором рак или опухоль обладает устойчивостью по меньшей мере к одному селективному ингибитору RET.

30 70. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором рак или опухоль обладает устойчивостью к селперкатинобу и/или пралсетинибу.

71. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором рак или опухоль содержит клетки, устойчивые к селперкатинибу и/или пралсетинибу.

5 72. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором рак или опухоль не обладает устойчивостью к 4-амино-N-[4-(метоксиметил)фенил]-7-(1-метилциклопропил)-6-(3-морфолинопроп-1-ин-1-ил)-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-карбоксамиду и обладает устойчивостью по меньшей мере к одному другому селективному ингибитору RET.

10 73. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором у больного человека ранее лечили рак или опухоль.

15 74. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором рак или опухоль, подлежащие лечению, прогрессировали после предшествующего лечения рака или опухоли.

20 75. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором у больного человека развилась непереносимость предшествующего лечения рака или опухоли.

76. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором больной человек ранее получал мультикиназный ингибитор.

25 77. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором больной человек ранее получал кабозантиниб, вандетаниб, ленватиниб и/или RDX-105.

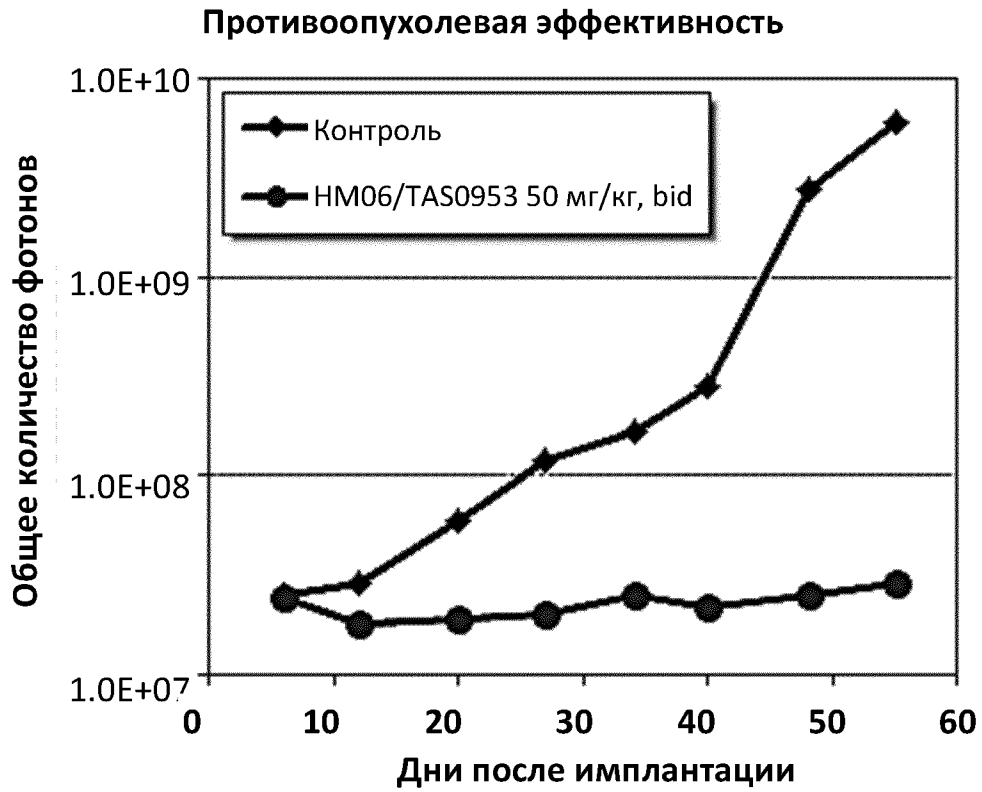
78. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором больной человек ранее получал селективный ингибитор RET.

30 79. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором больной человек ранее получал селперкатиниб и/или пралсетиниб.

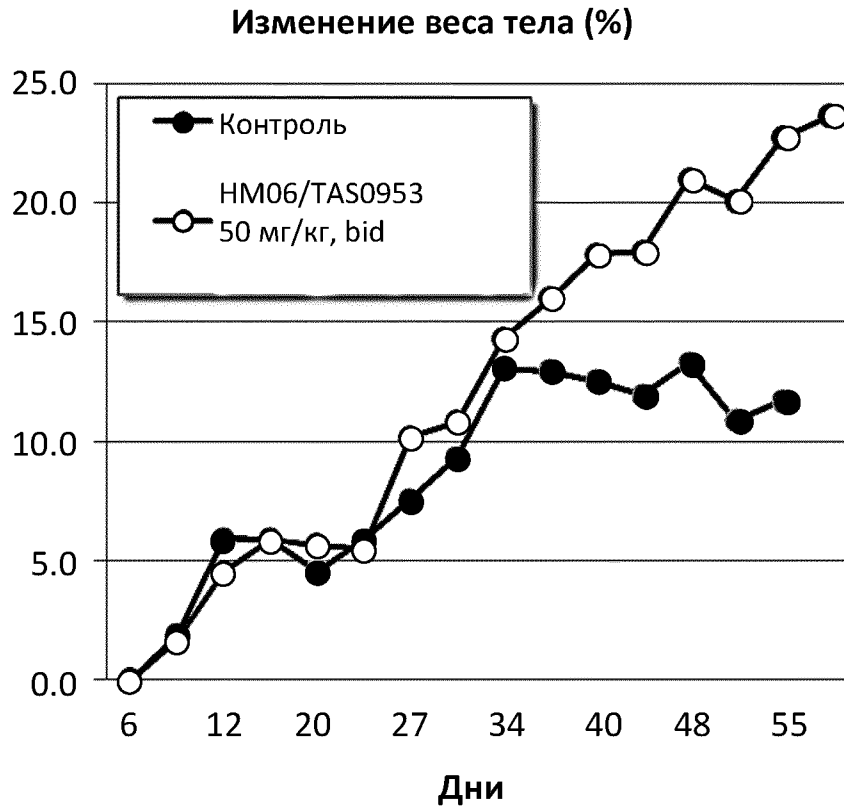
80. Способ по одному из п.п. 1-77, в котором больной человек ранее не получал селективный ингибитор RET.

5 81. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором больной человек имеет по меньшей мере одно из следующих заболеваний: рак слюнных желез, рак легкого, колоректальный рак, рак щитовидной железы, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, рак яичников, рак кожи и рак головного мозга.

10 82. Способ по одному из предыдущих пунктов, в котором больной человек имеет по меньшей мере одно из следующих заболеваний: медуллярный или анапластический рак щитовидной железы, метастатический рак молочной железы и метастатическую аденокарциному поджелудочной железы.

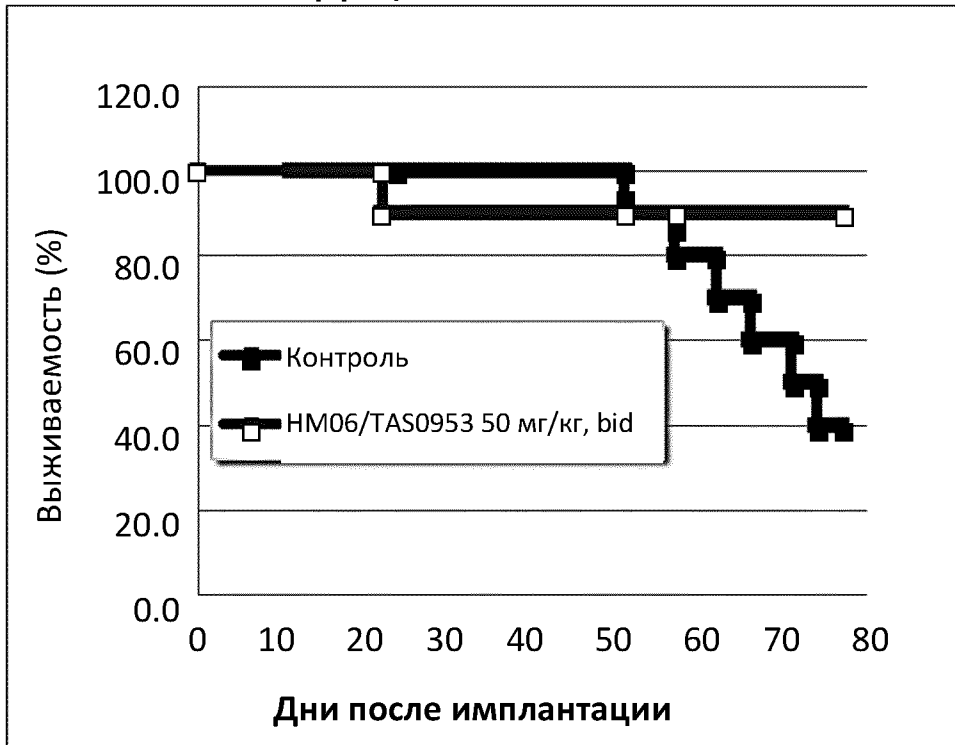


Фиг. 1А



Фиг. 1Б

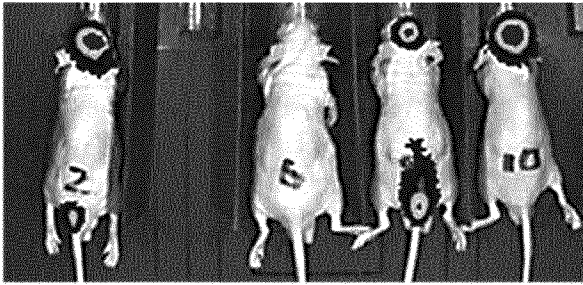
Коэффициент выживаемости



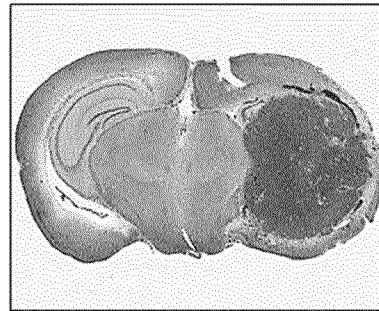
Фиг. 1В

IVIS-изображение и патология в день 77

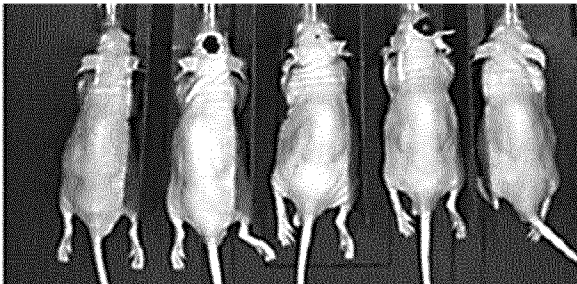
Контроль



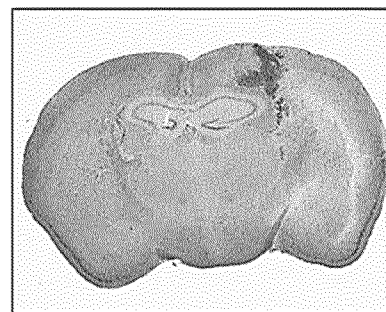
Контроль



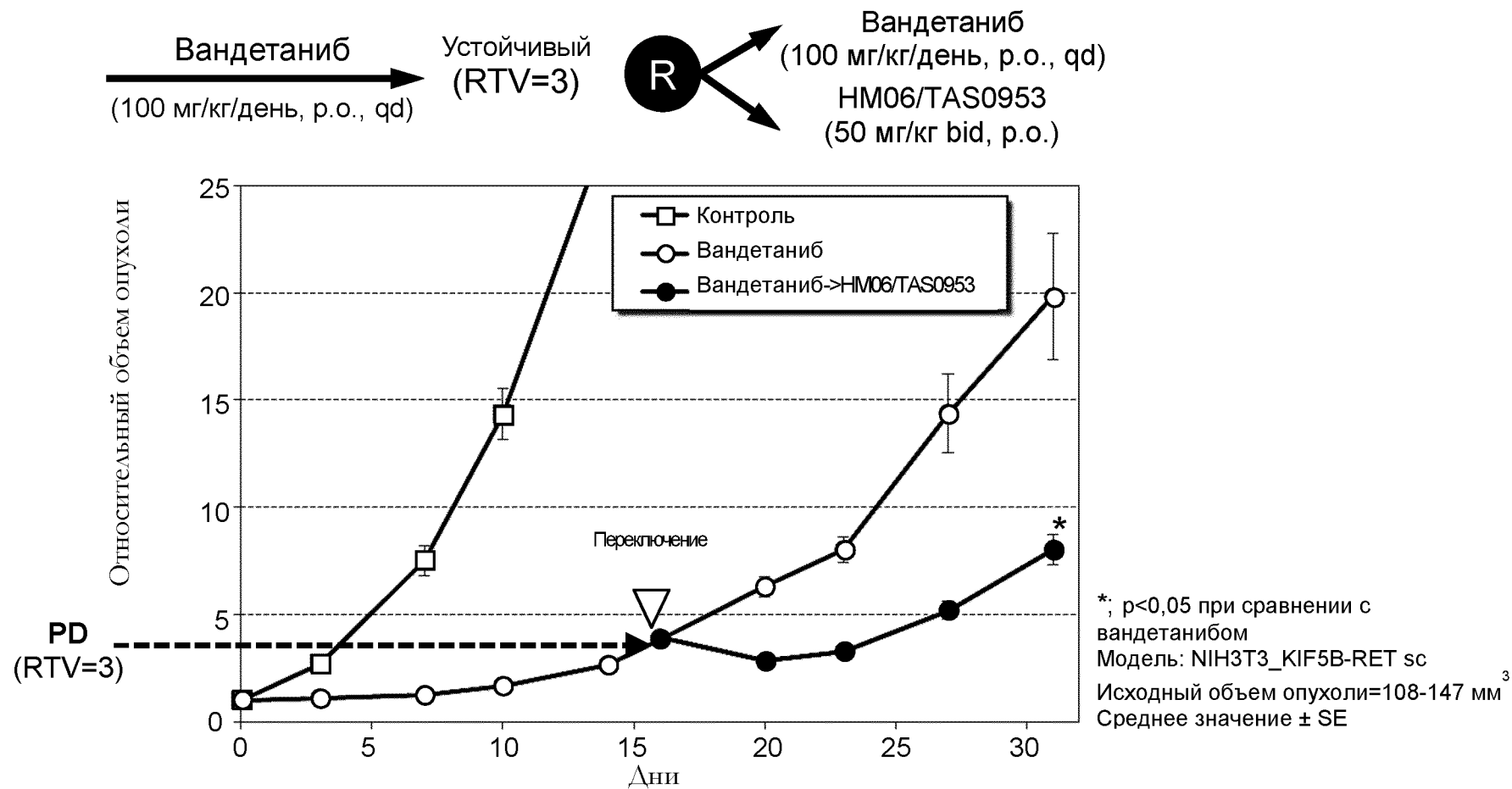
HM06/TAS0953



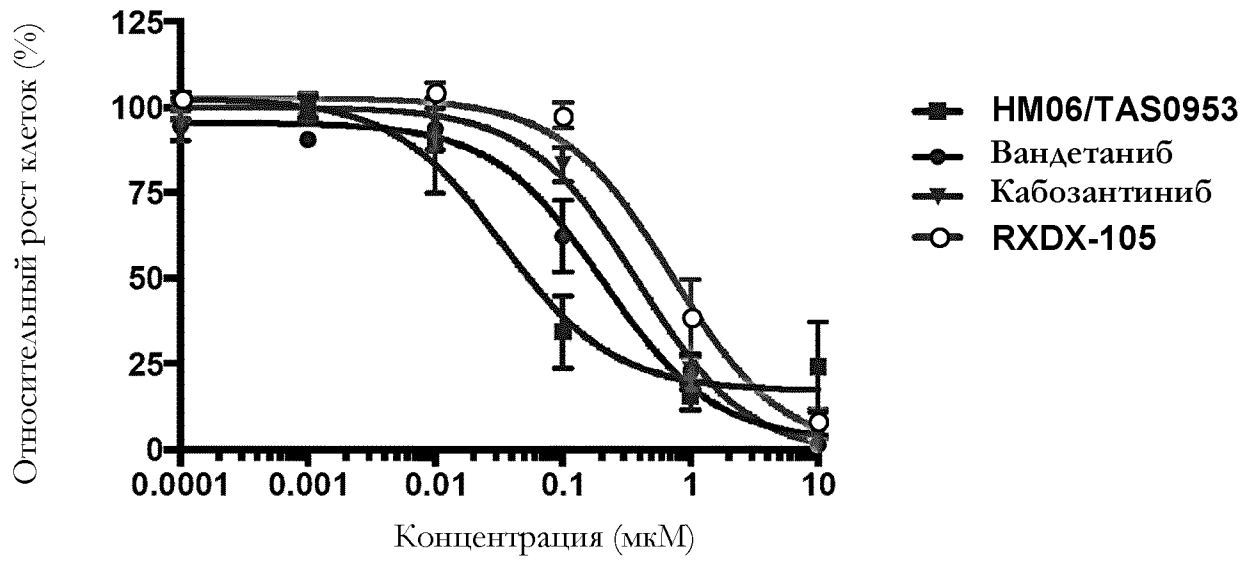
HM06/TAS0953 50 мг/кг, bid



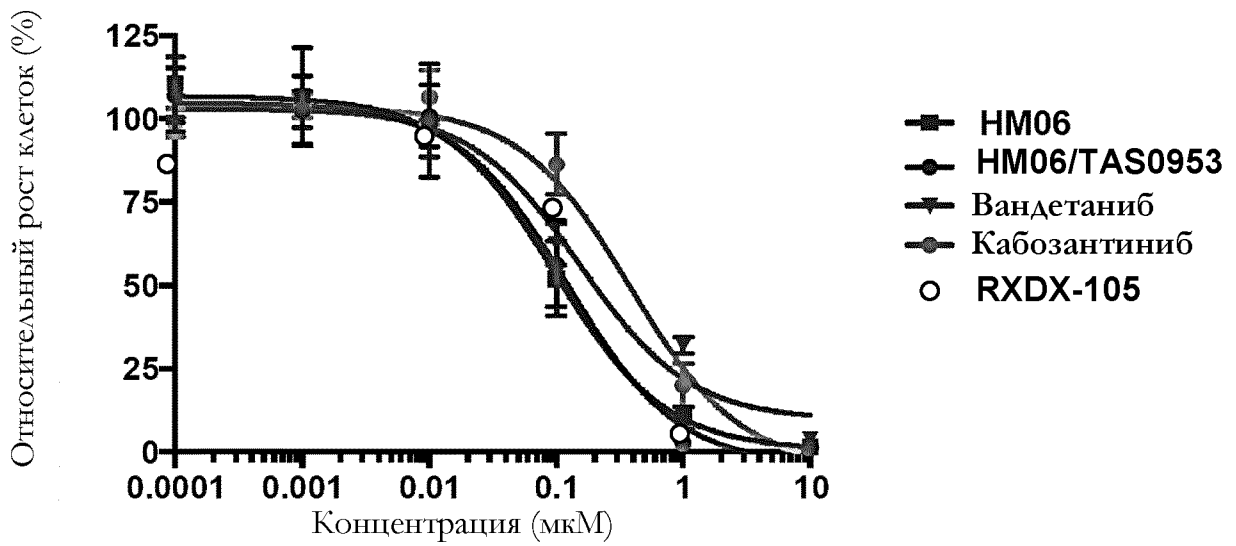
Фиг. 1Г



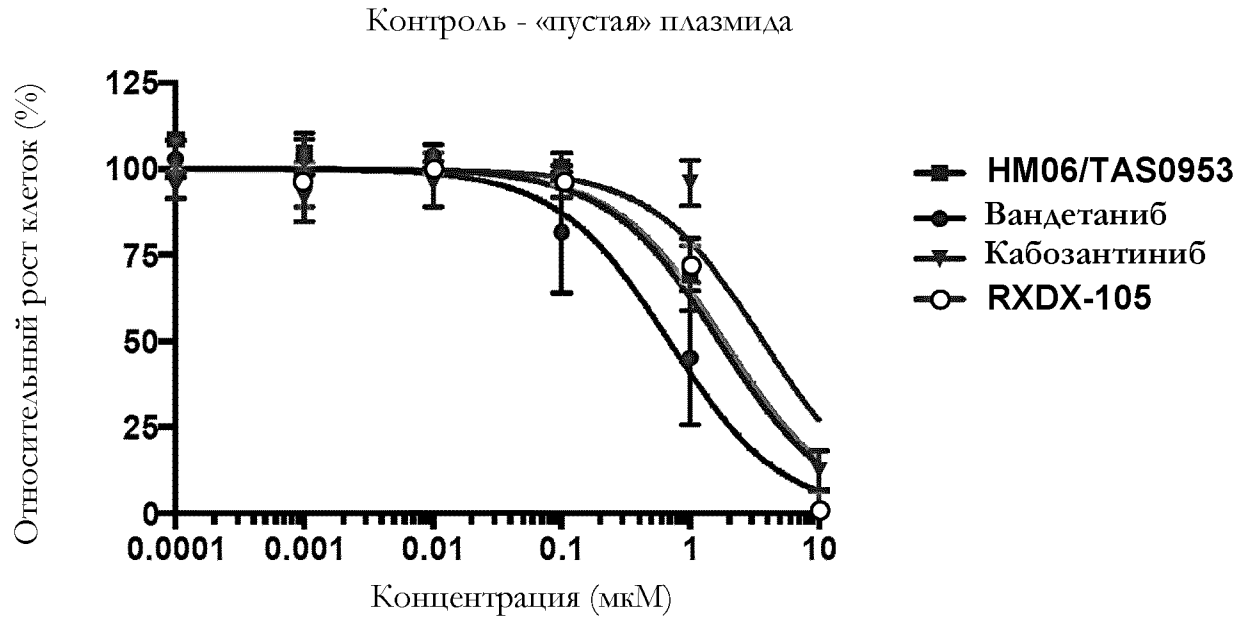
Фиг. 2



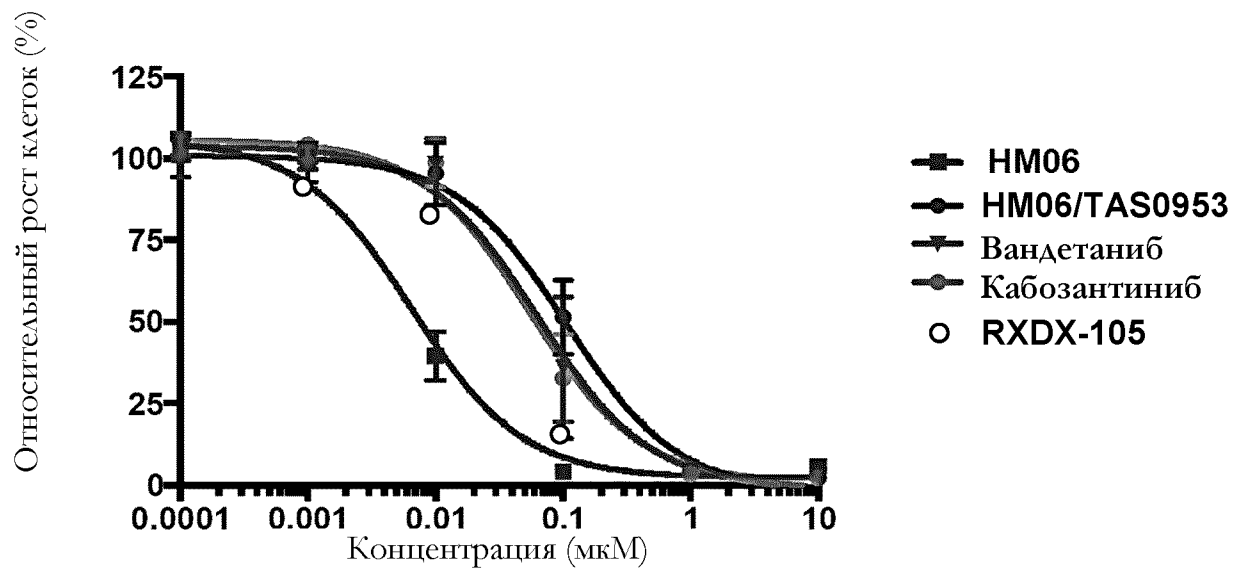
Фиг. 3А



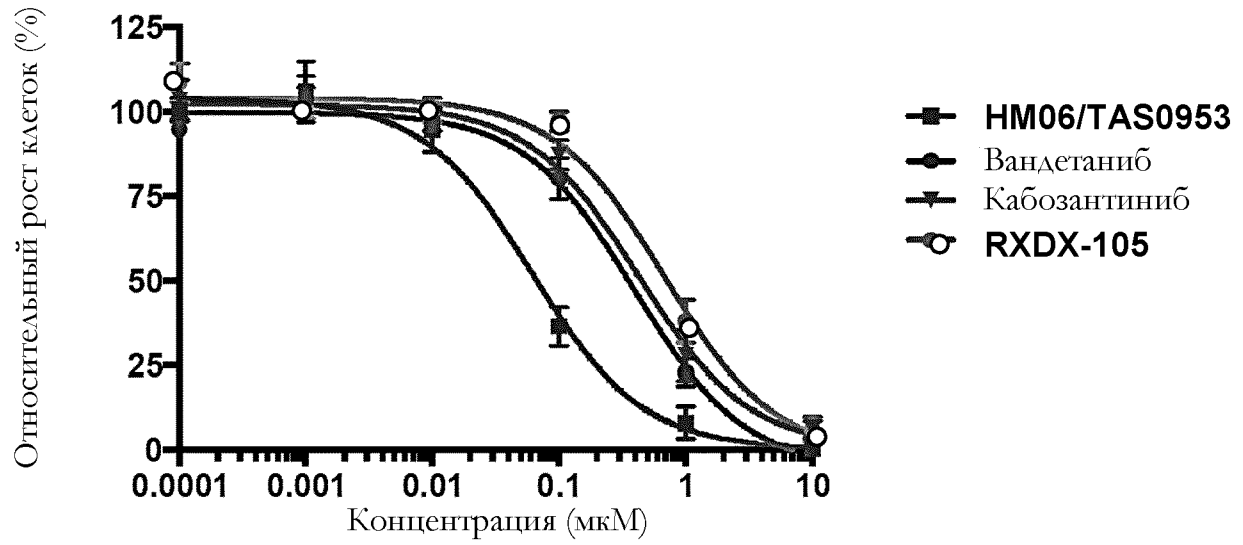
Фиг. 3Б



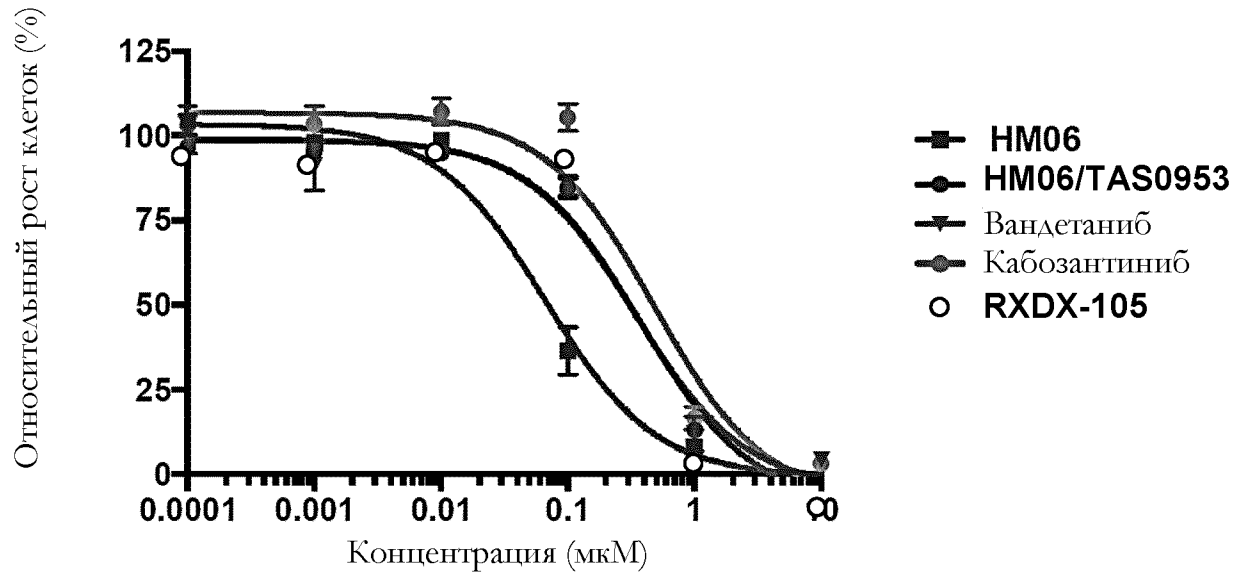
Фиг. 3В



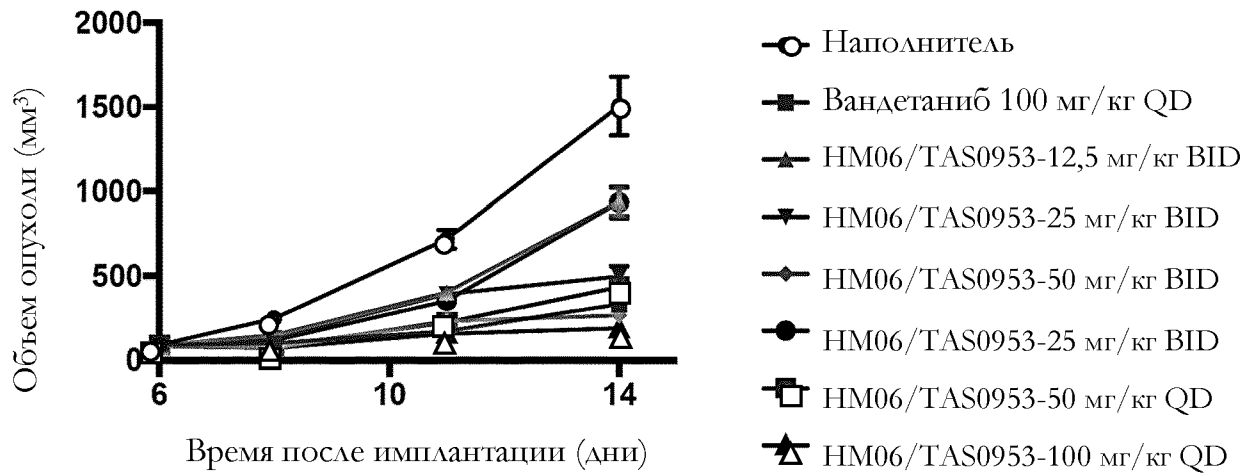
Фиг. 3Г



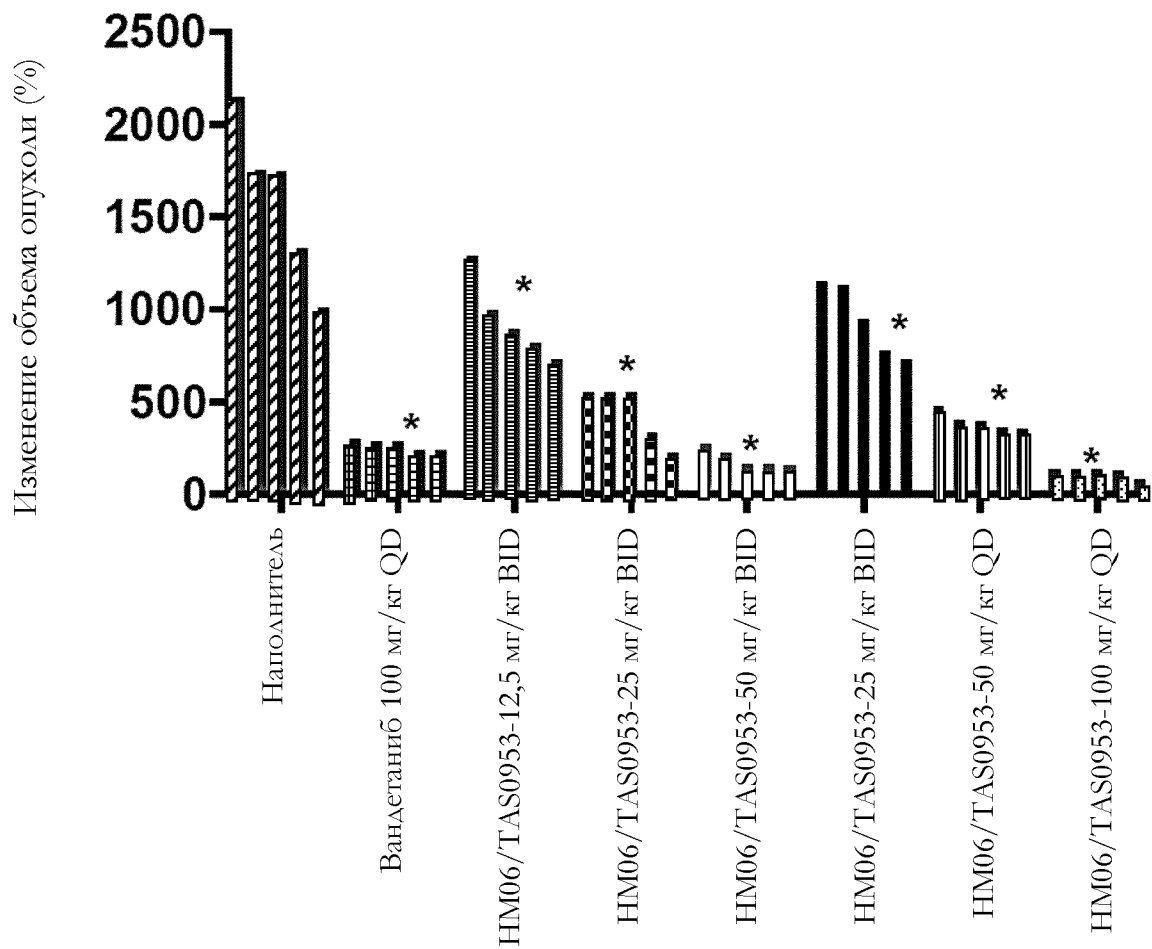
Фиг. 3Д



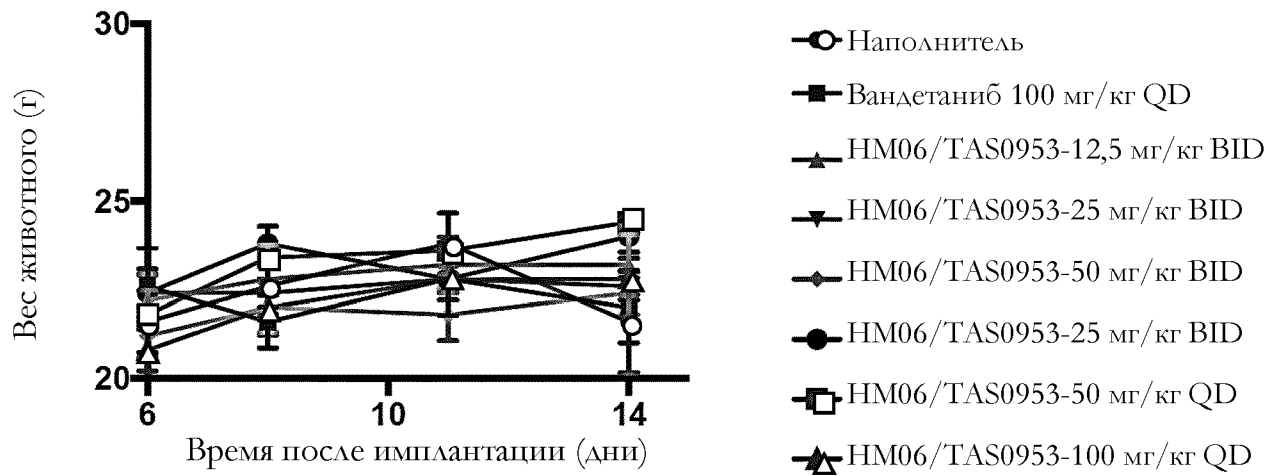
Фиг. 3Е



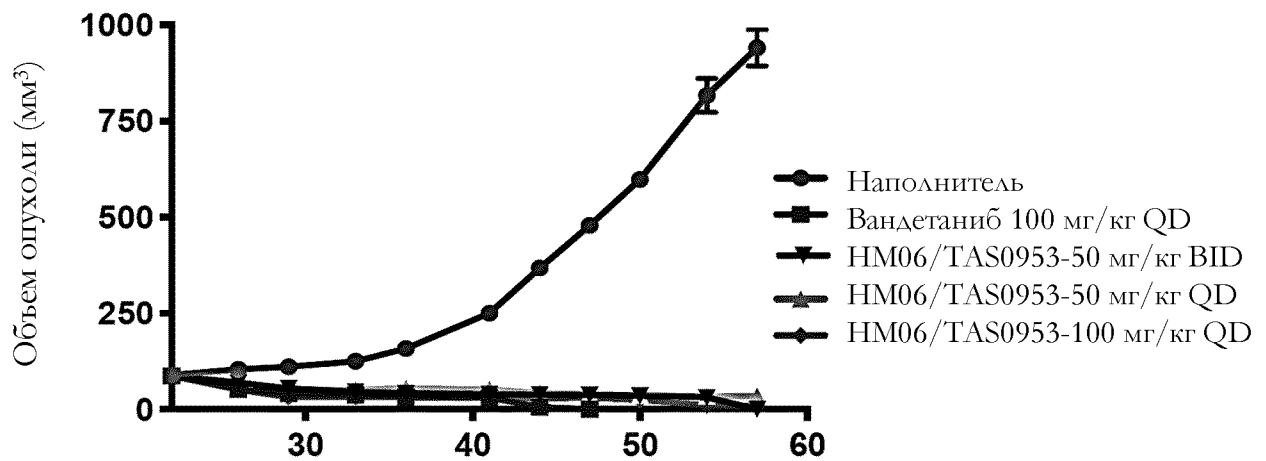
Фиг. 4А



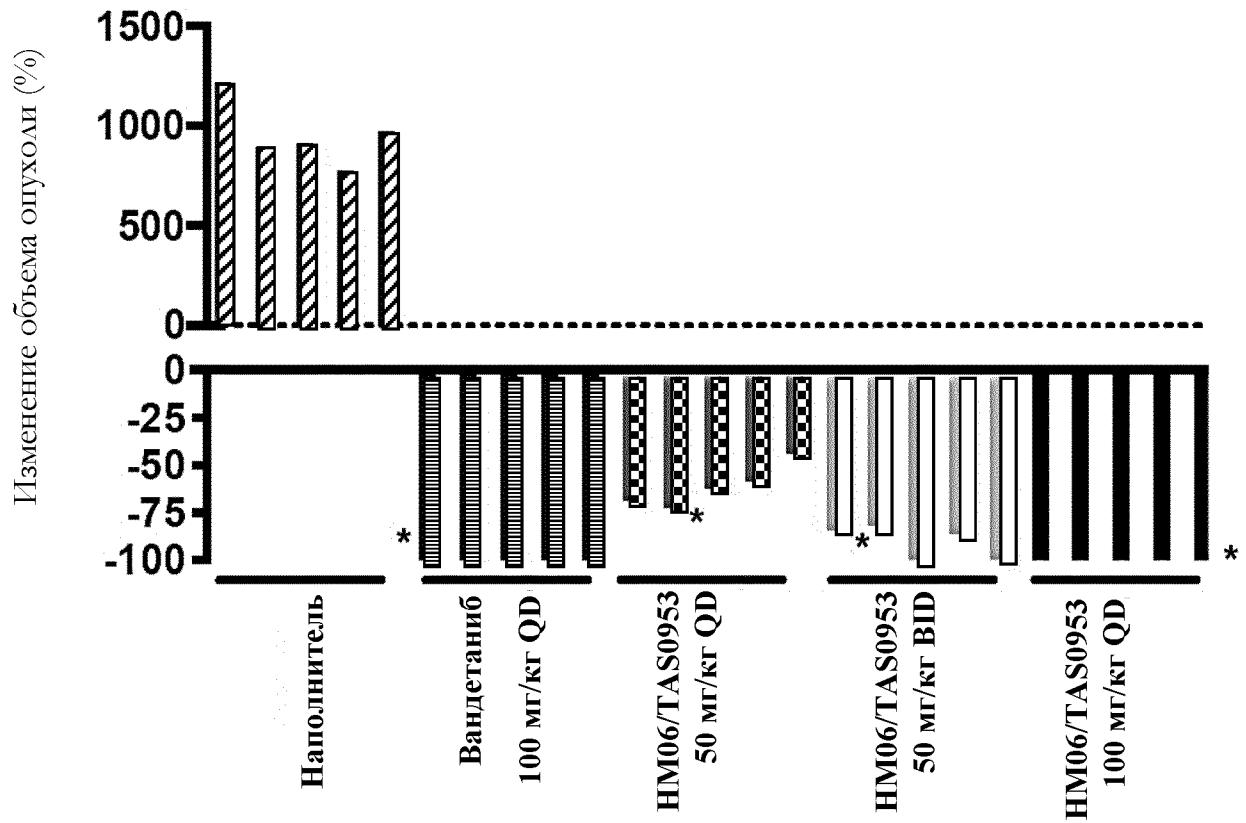
Фиг. 4Б



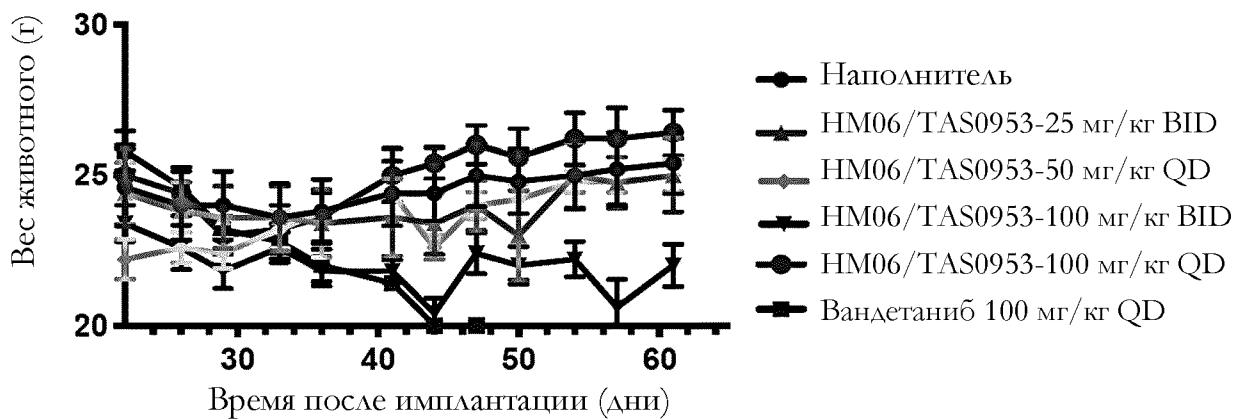
Фиг. 4В



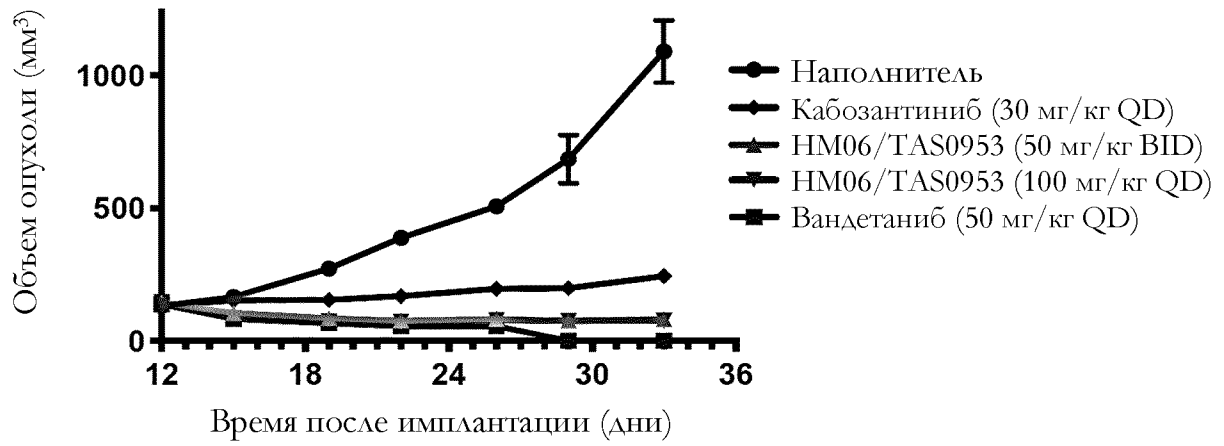
Фиг. 5А



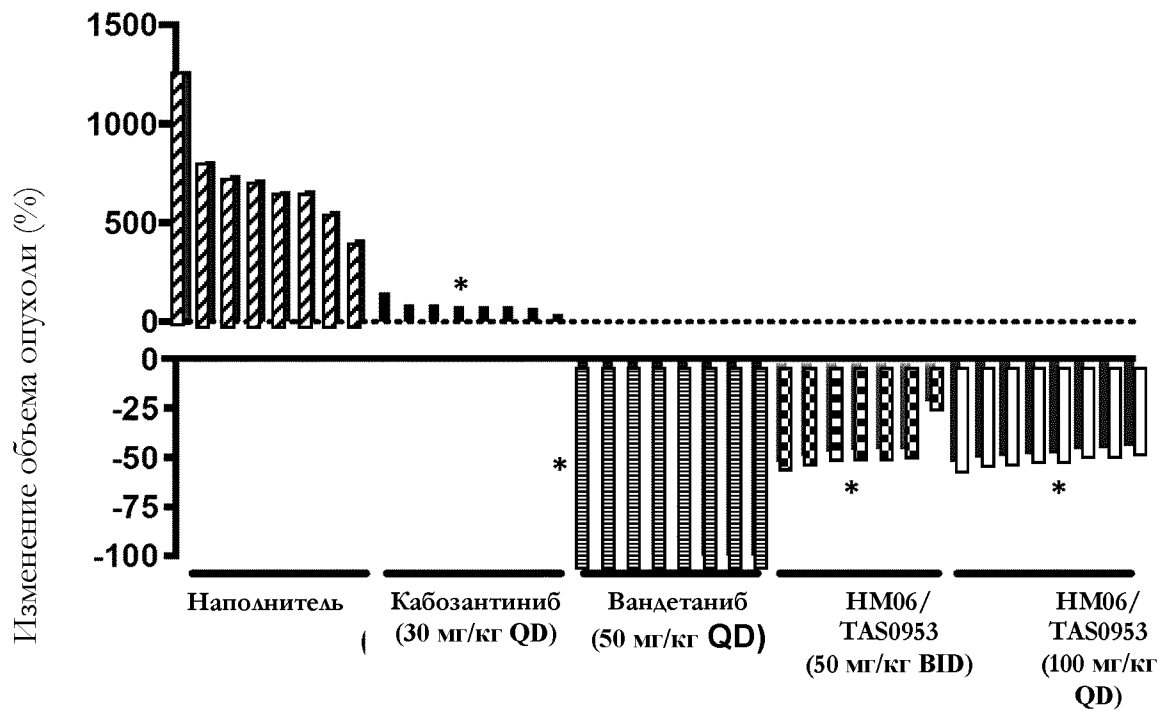
Фиг. 5Б



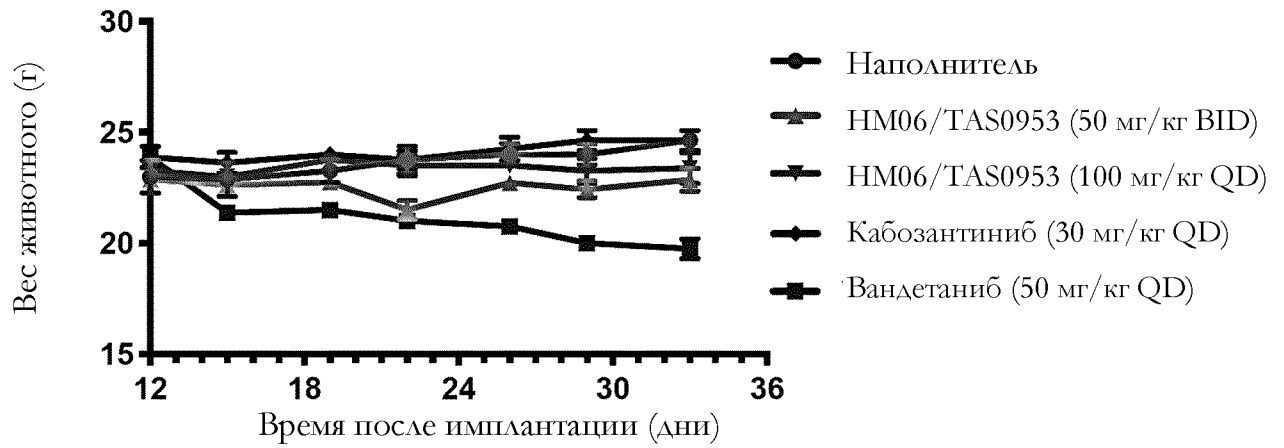
Фиг. 5В



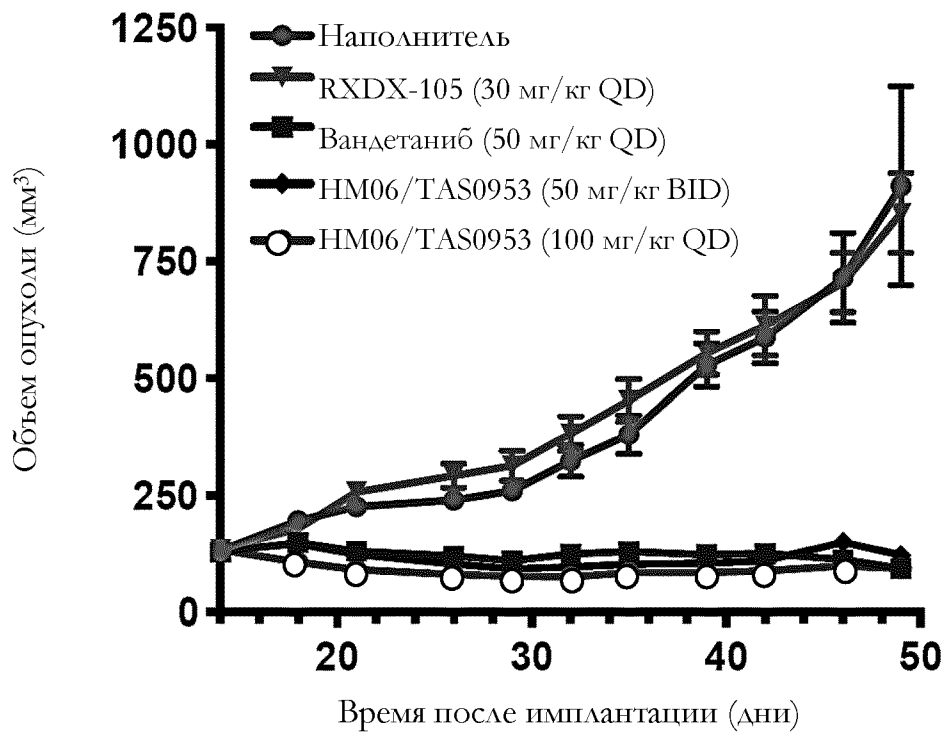
Фиг. 6А



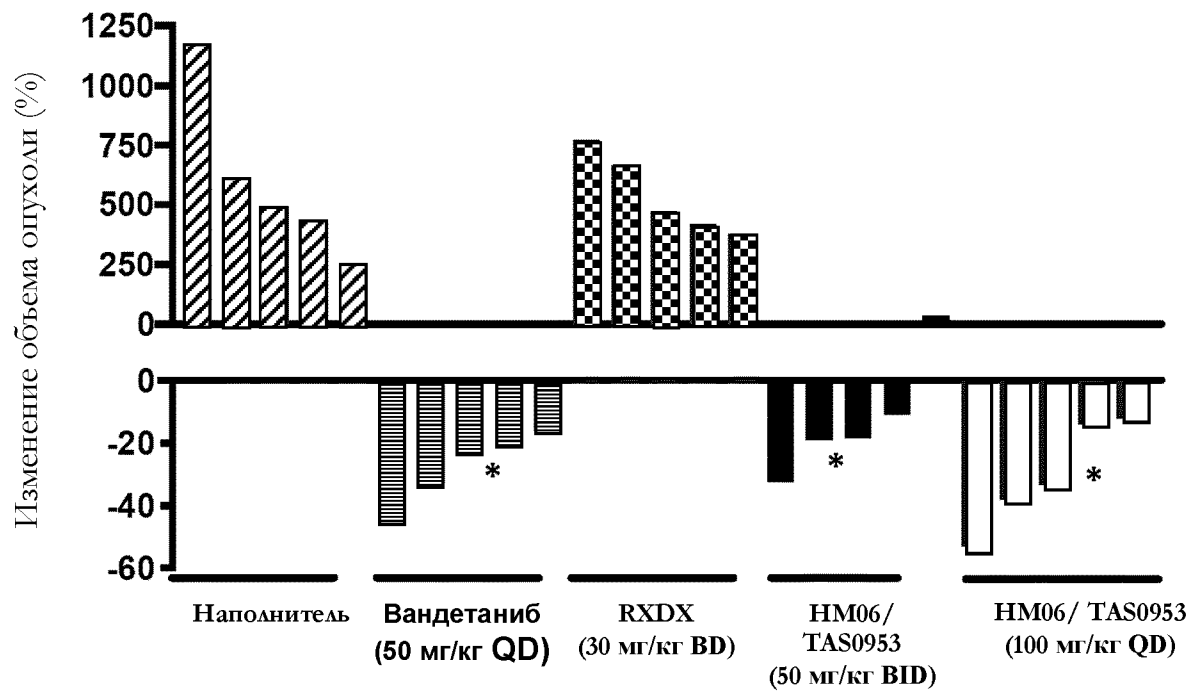
Фиг. 6Б



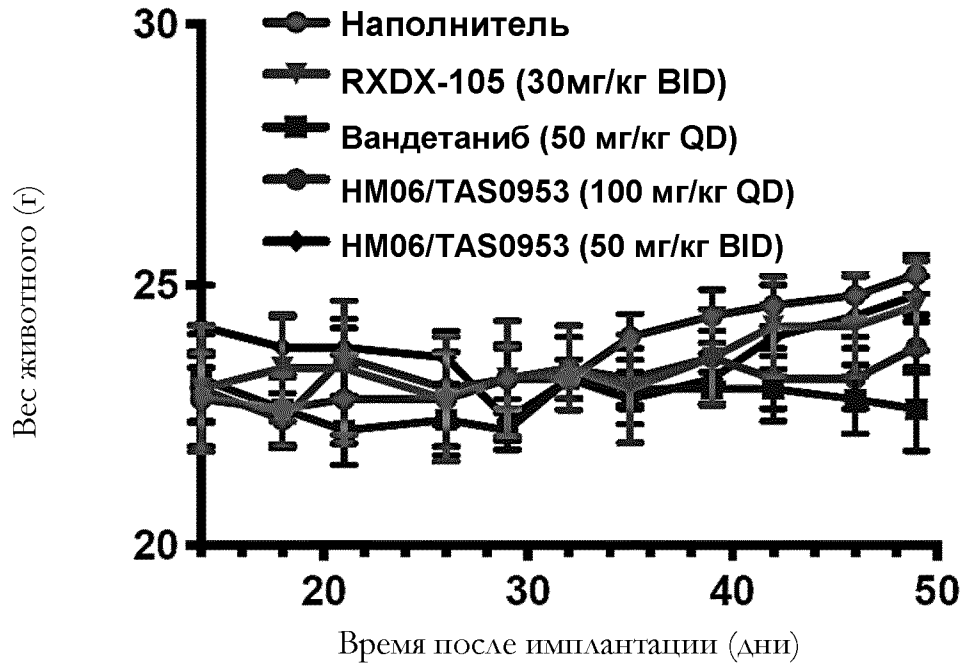
Фиг. 6В



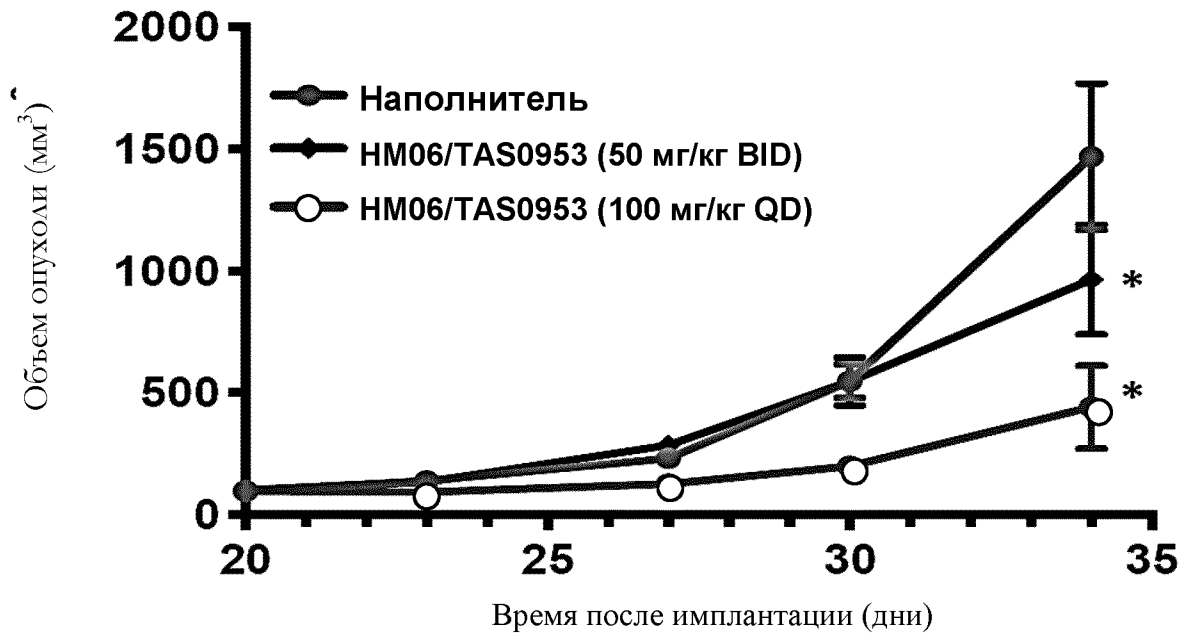
Фиг. 7А



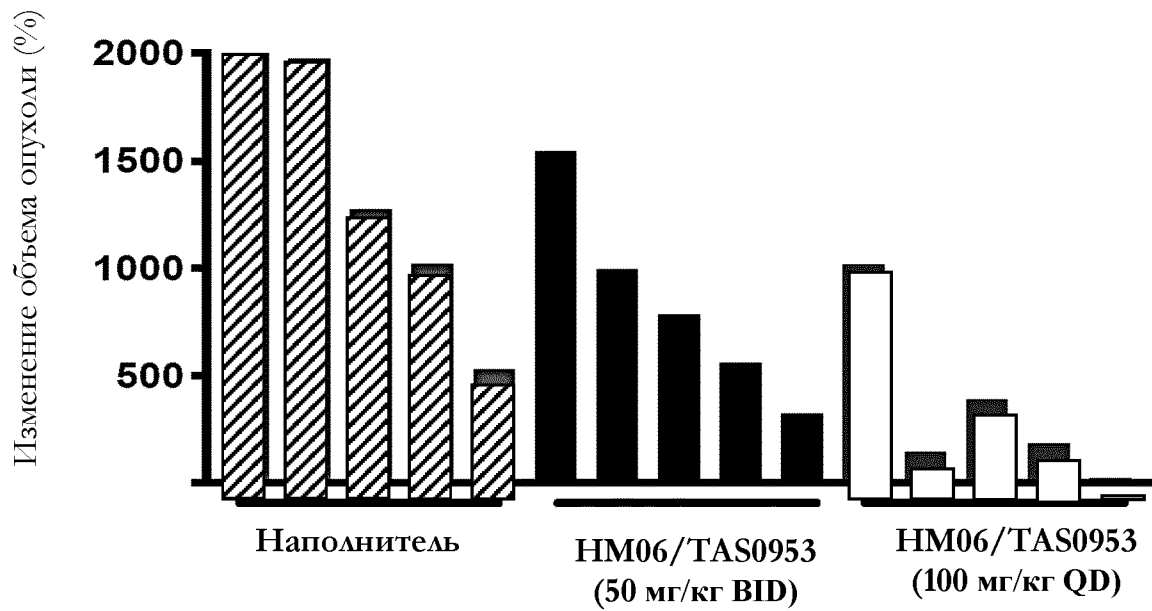
Фиг. 7Б



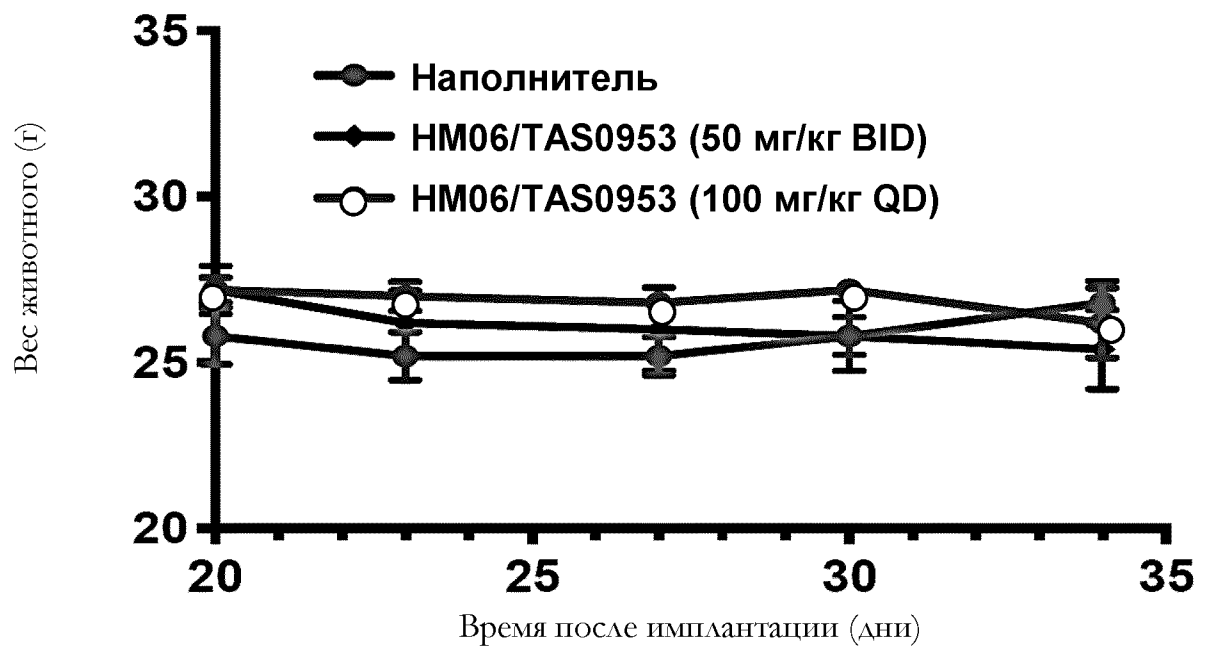
Фиг. 7В



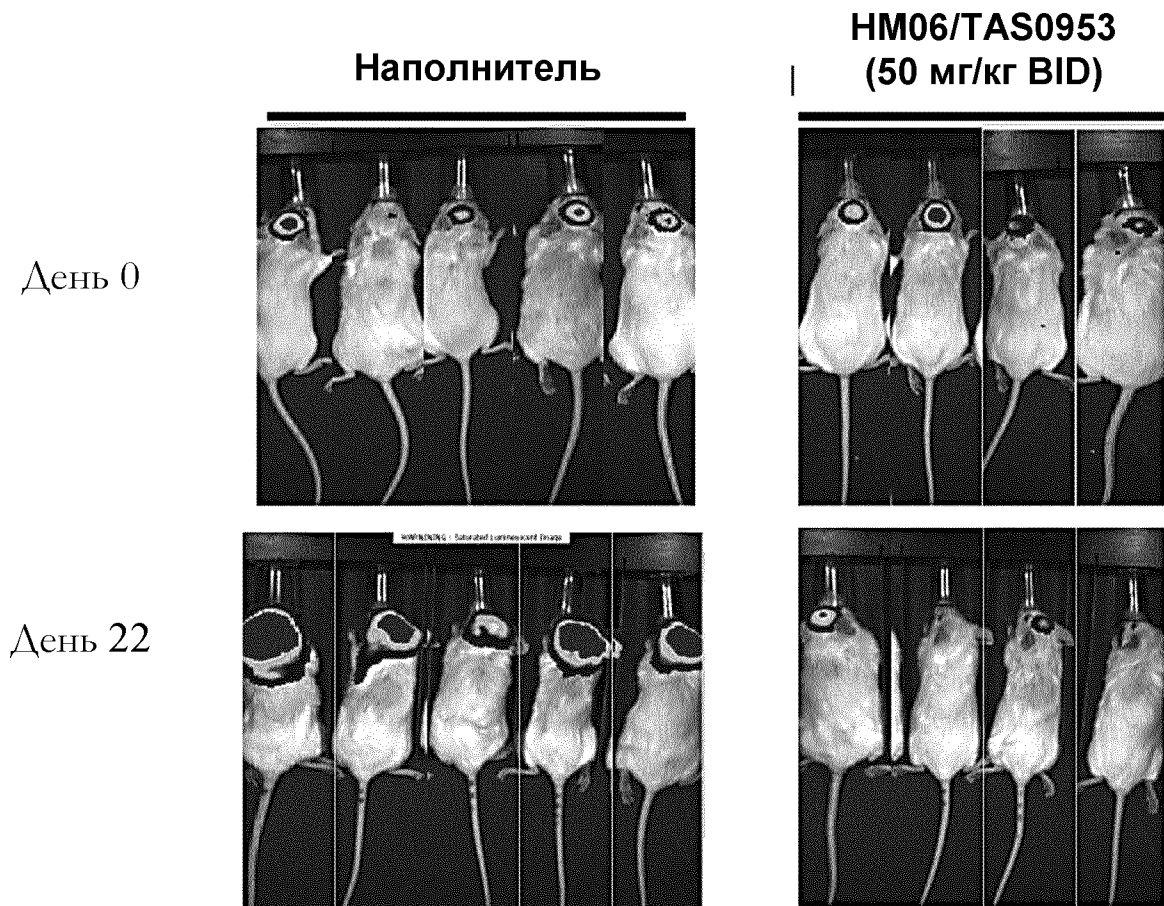
Фиг. 8А



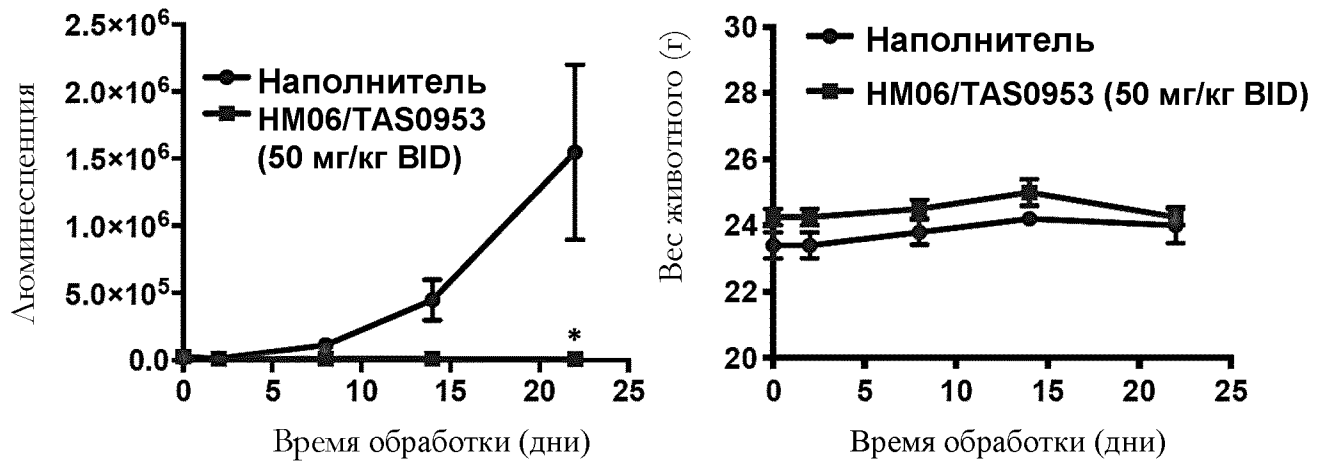
Фиг. 8Б



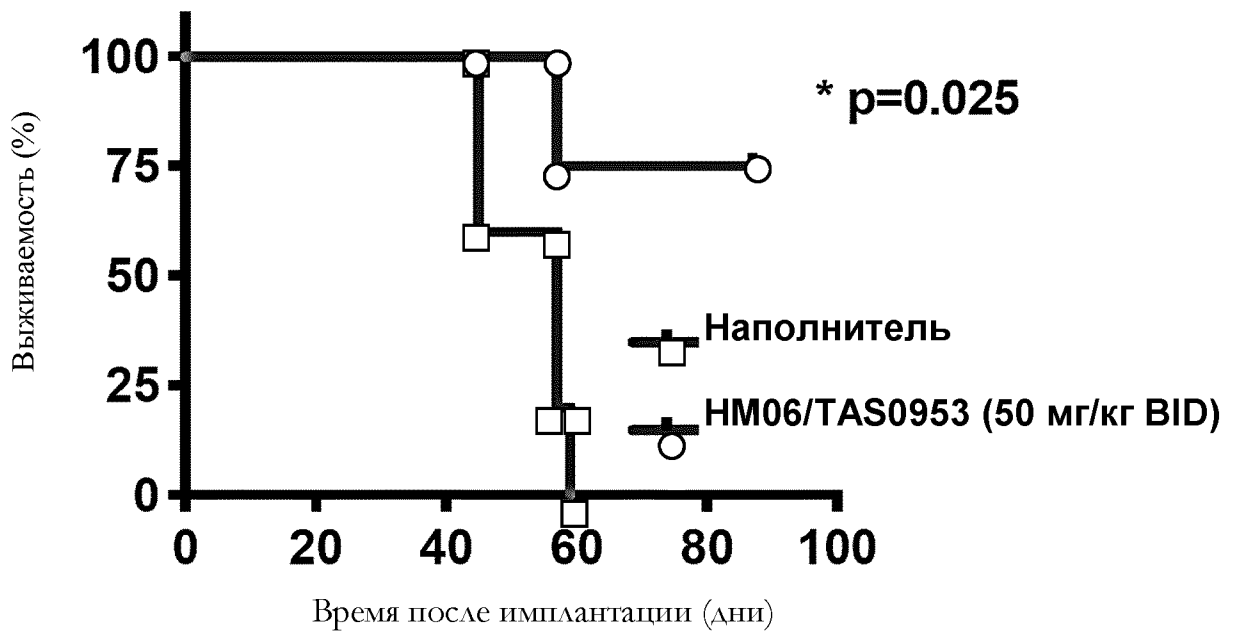
Фиг. 8В



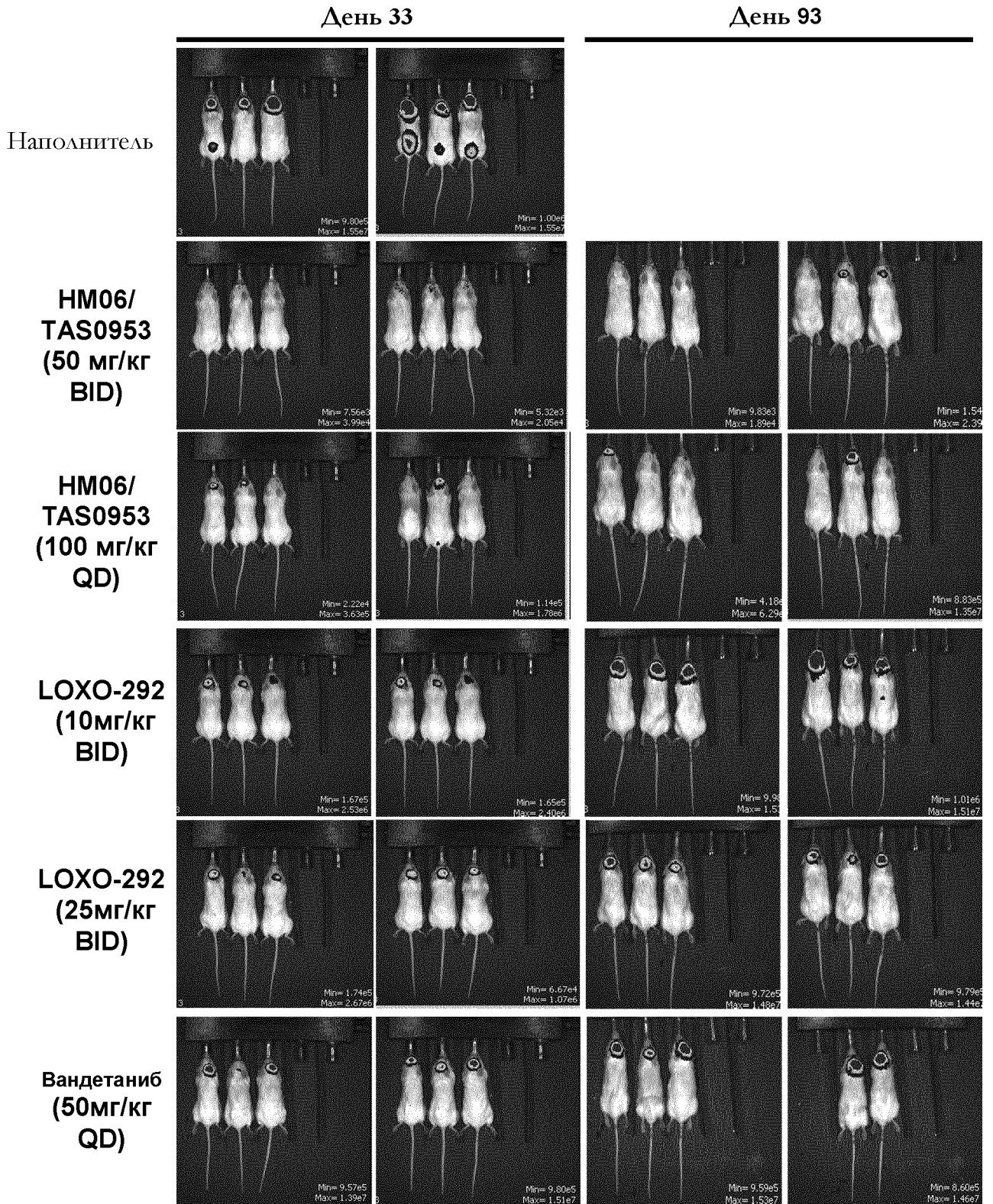
Фиг. 9А



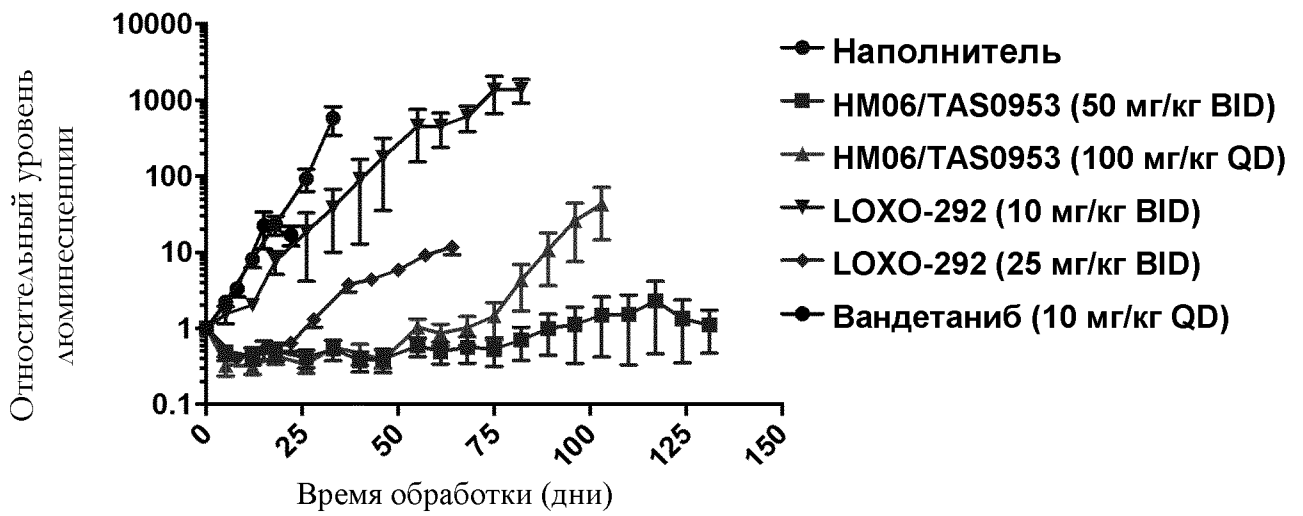
Фиг. 9Б



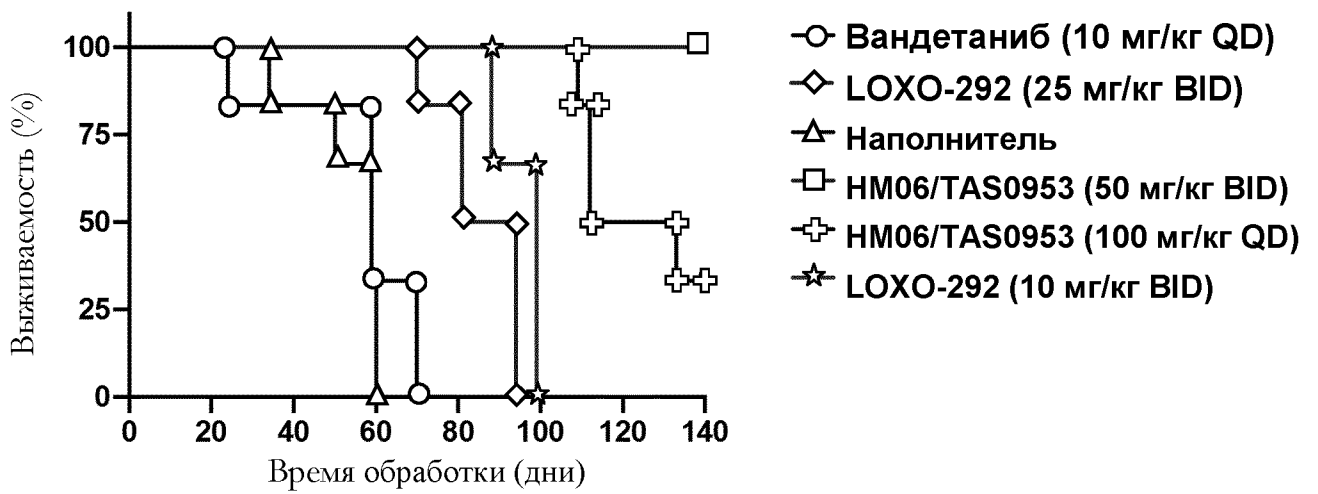
Фиг. 9В



Фиг. 10А

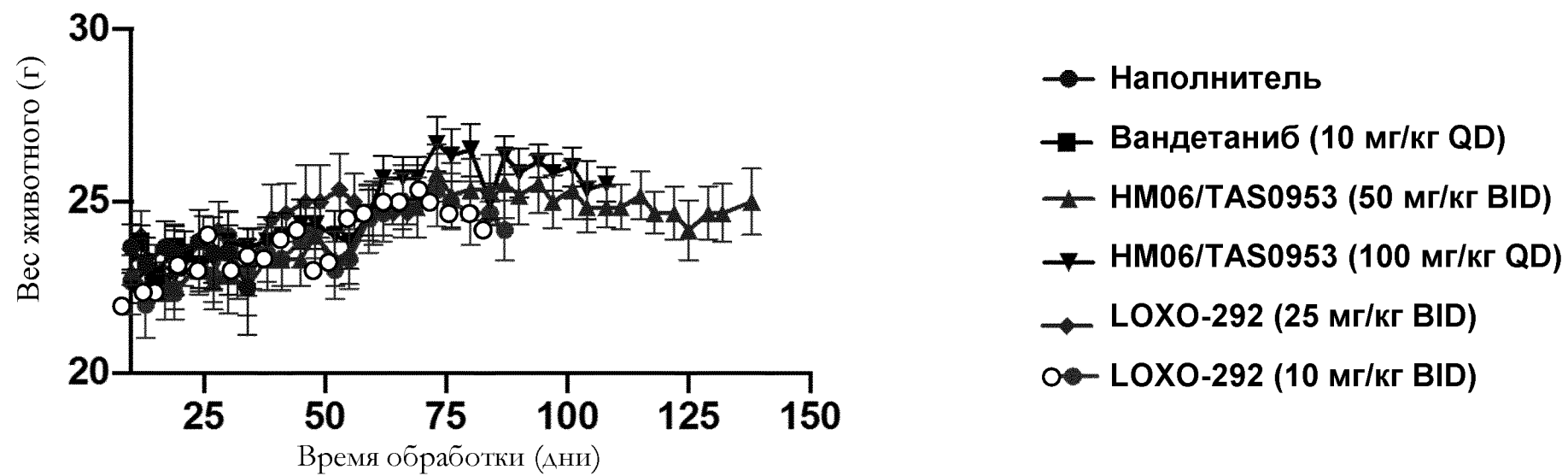


Фиг. 10Б



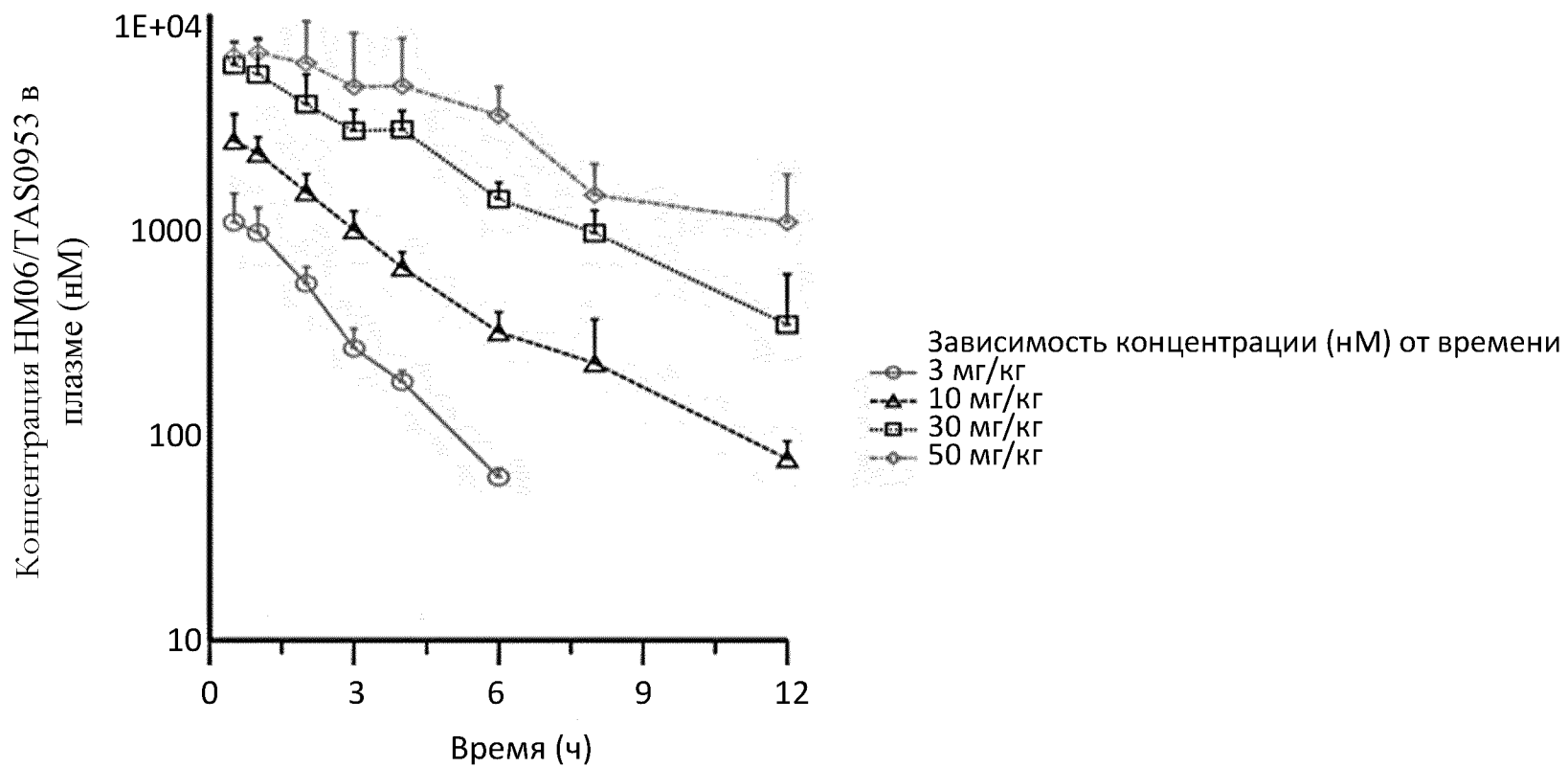
HM06/TAS0953 (50 мг/кг BID) vs Loxo-292 (10 мг/кг BID): $P=0,0012$
 HM06/TAS0953 (50 мг/кг BID) vs Loxo-292 (25 мг/кг BID): $P=0,0010$

Фиг. 10В



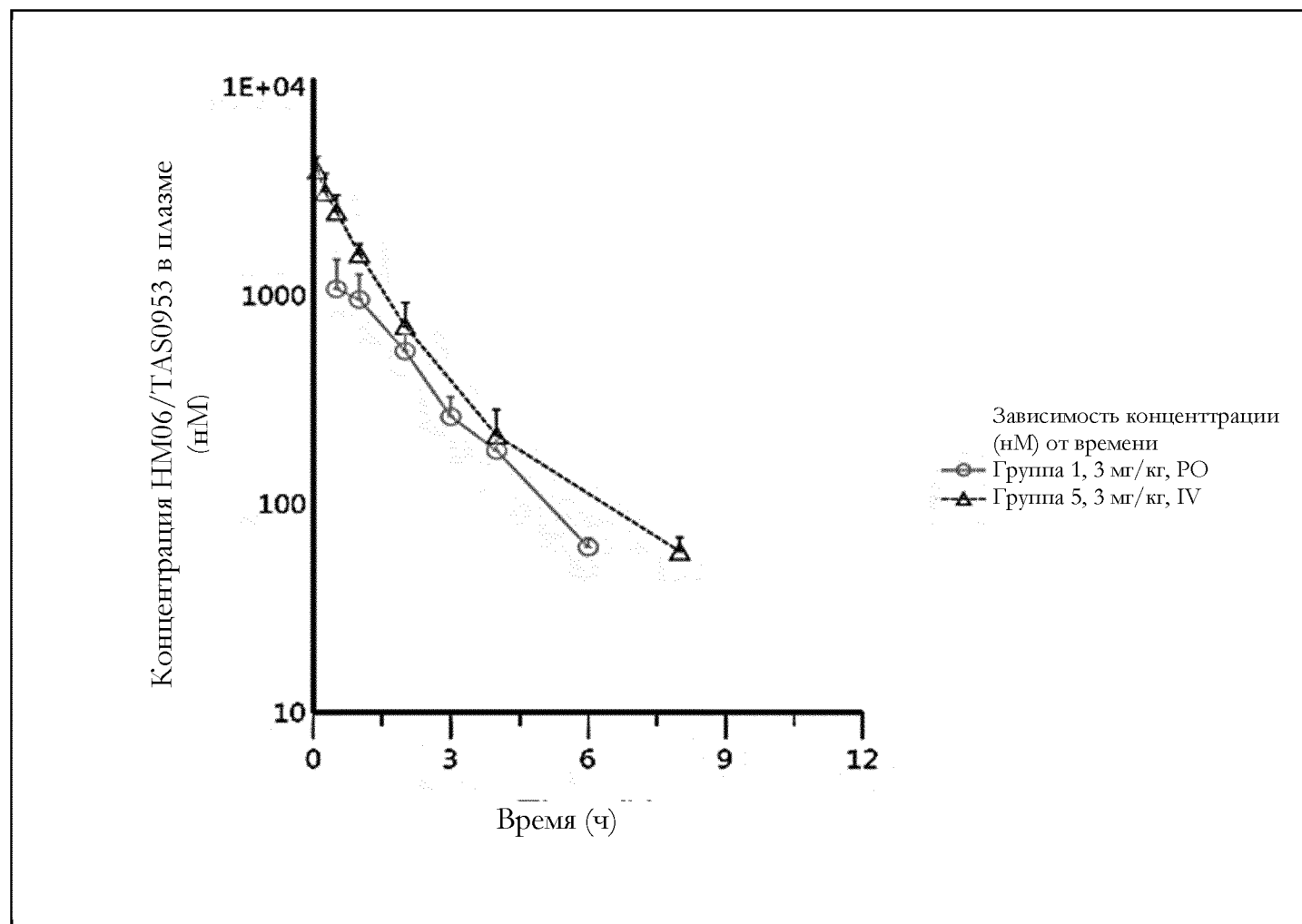
Фиг. 10Г

ФК в организме крысы после однократного орального введения в дозе 3, 10, 30, 50 мг/кг



Фиг. 11А

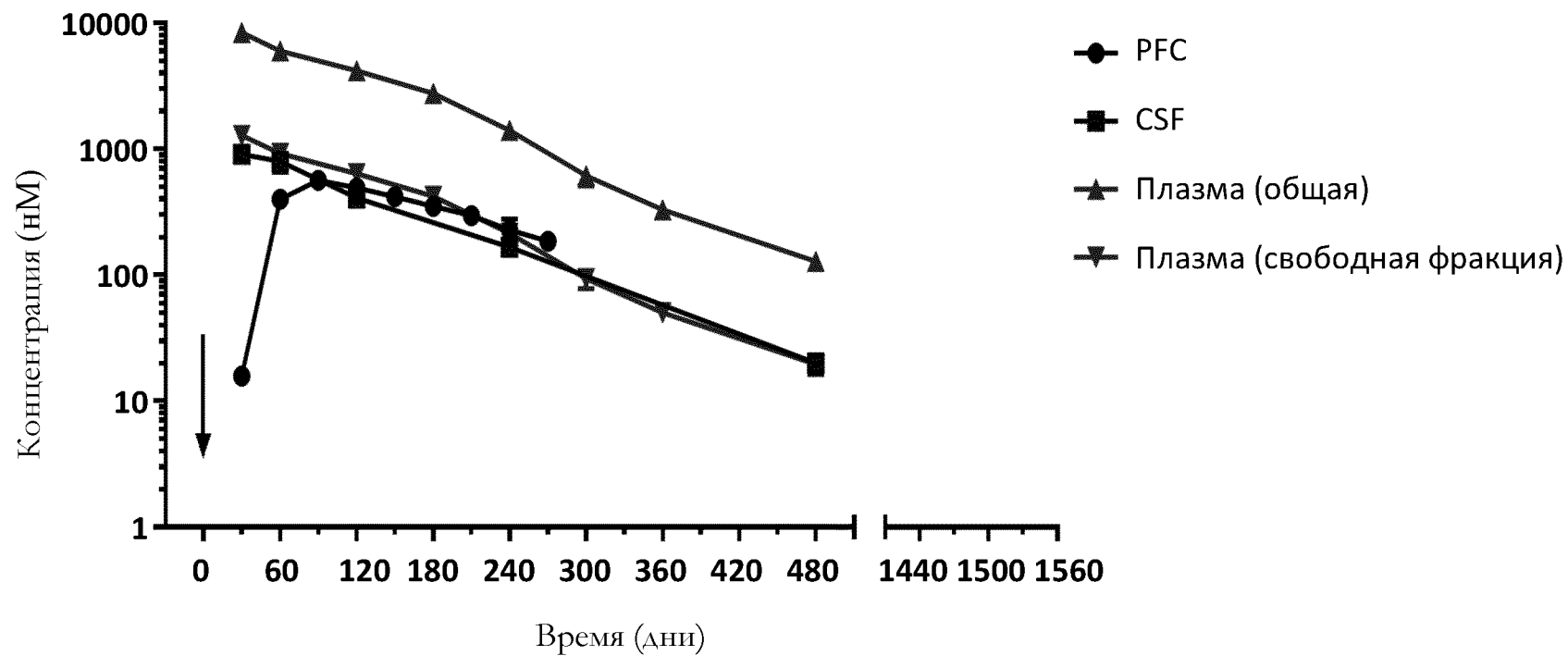
ФК в организме крысы после однократного орального и IV-введения в дозе 3 мг/кг



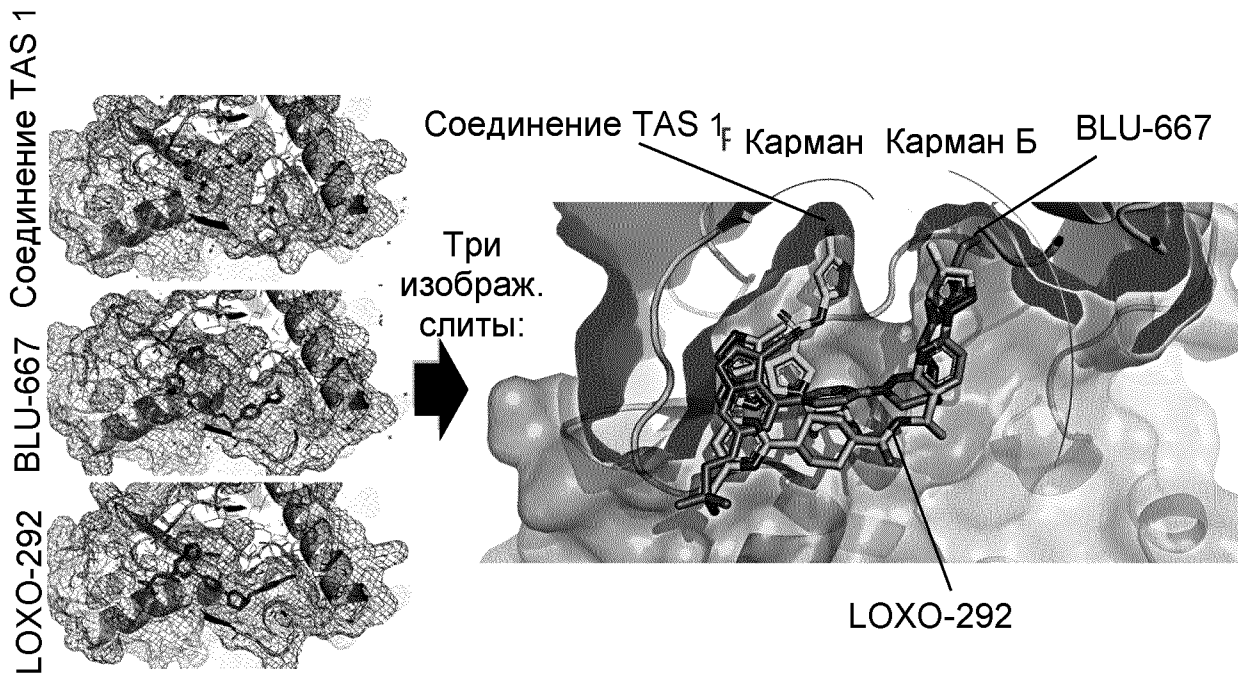
Фиг. 11Б

ФК-профиль в PFC, CSF и плазме (общая и свободная фракция)

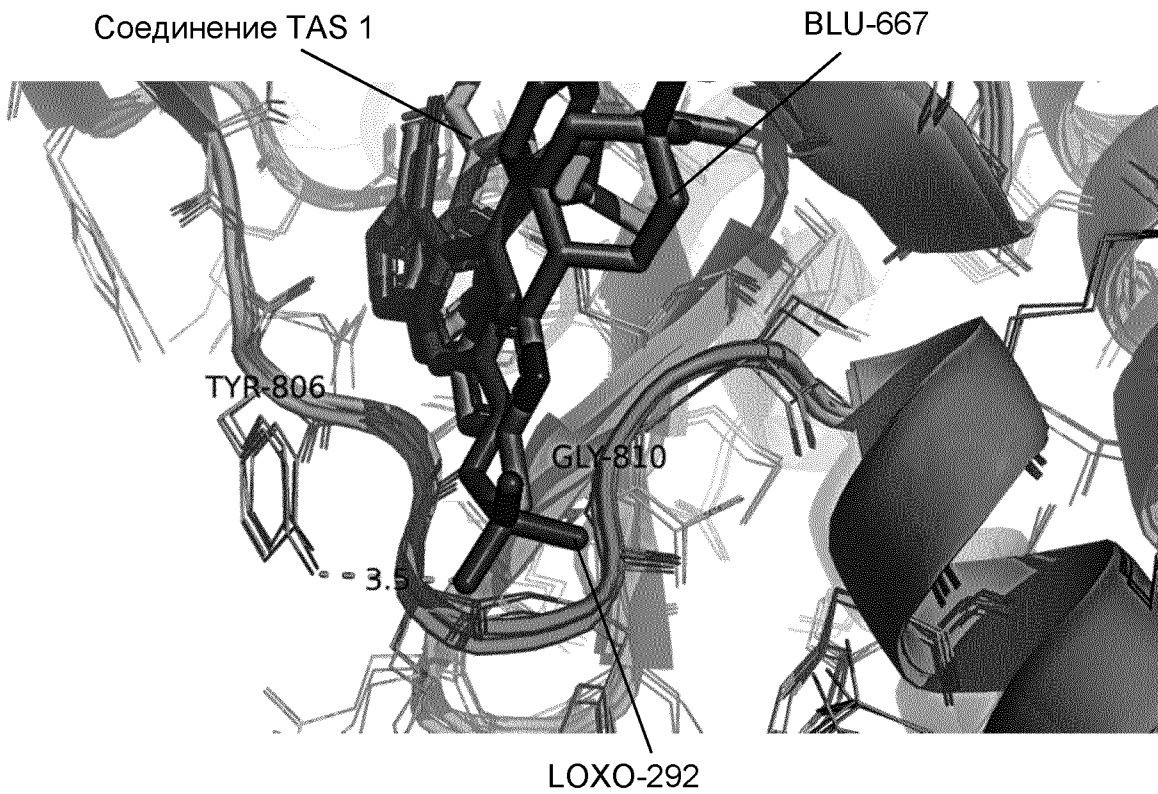
10 мг/кг НМ06/TAS0953 (р.о.)



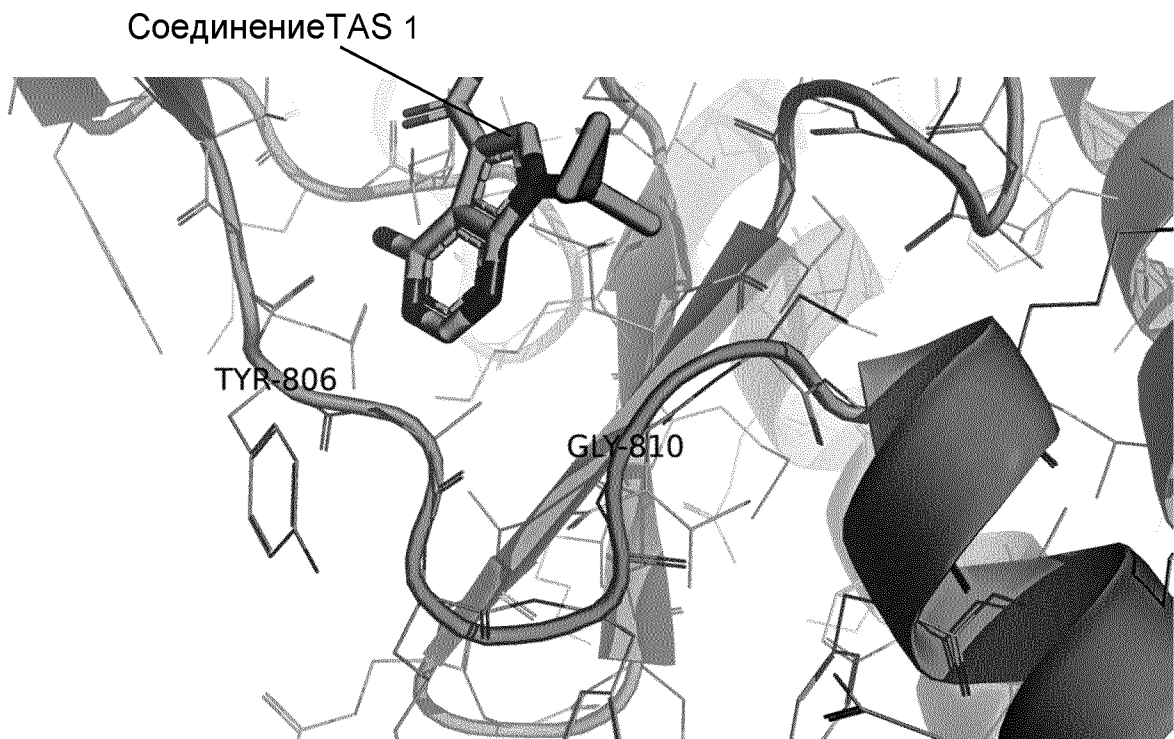
Фиг. 11В



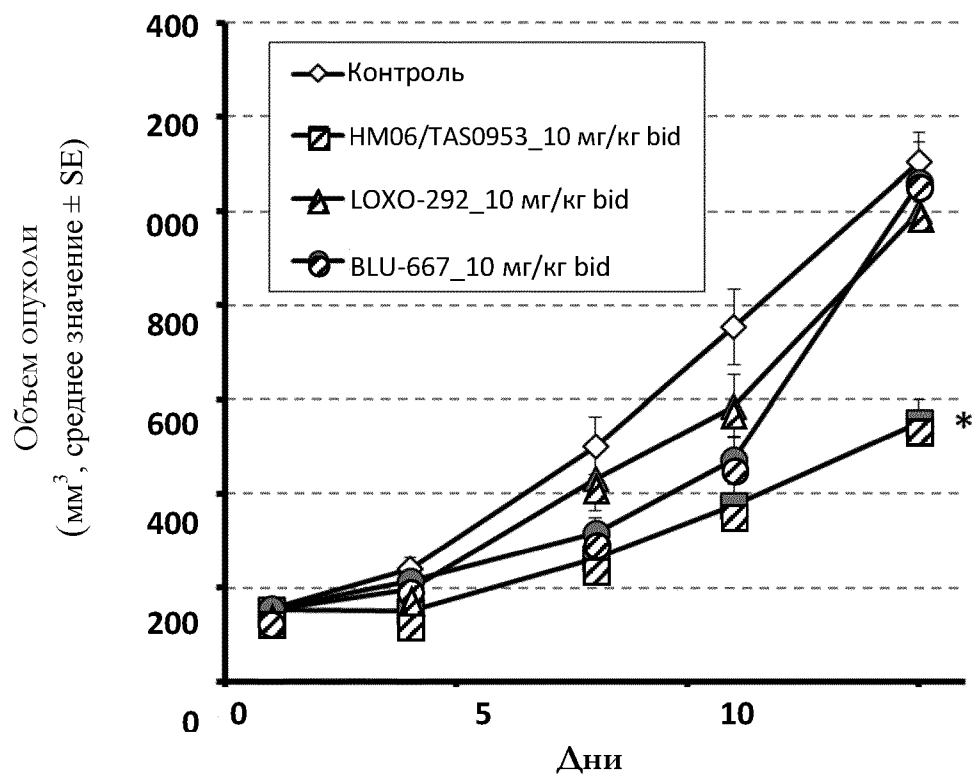
Фиг. 12А



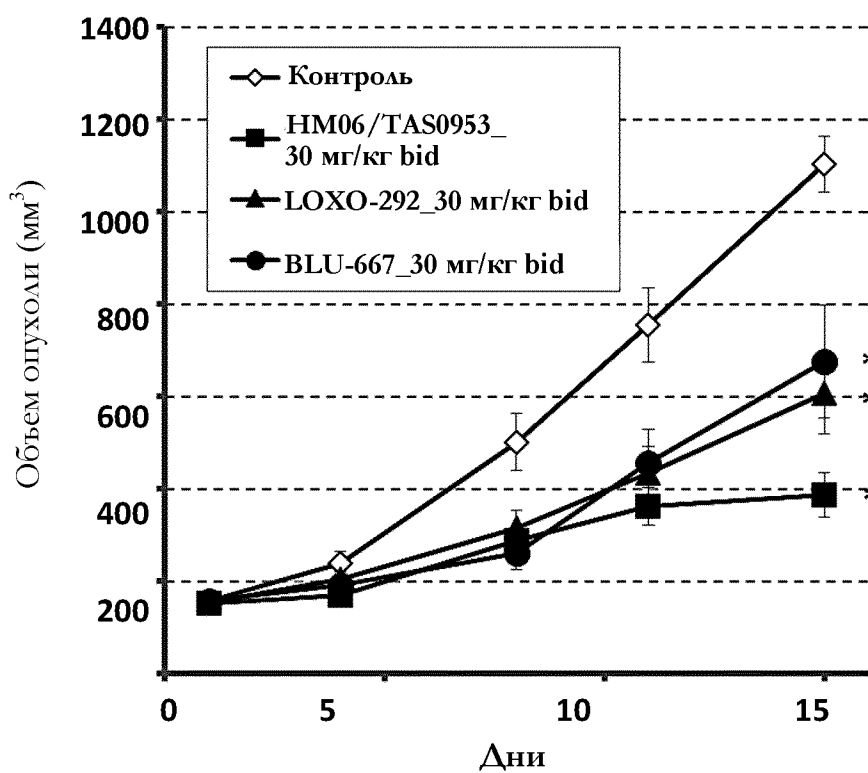
Фиг. 12Б



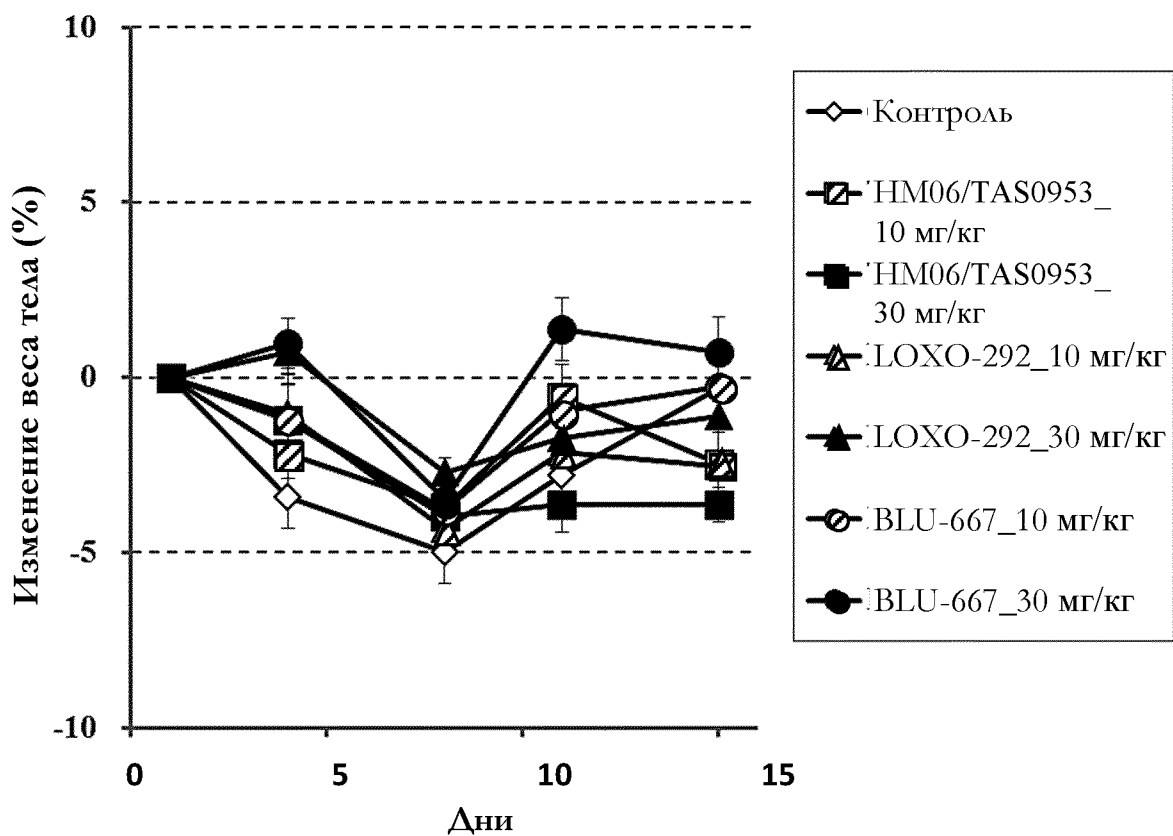
Фиг. 12В



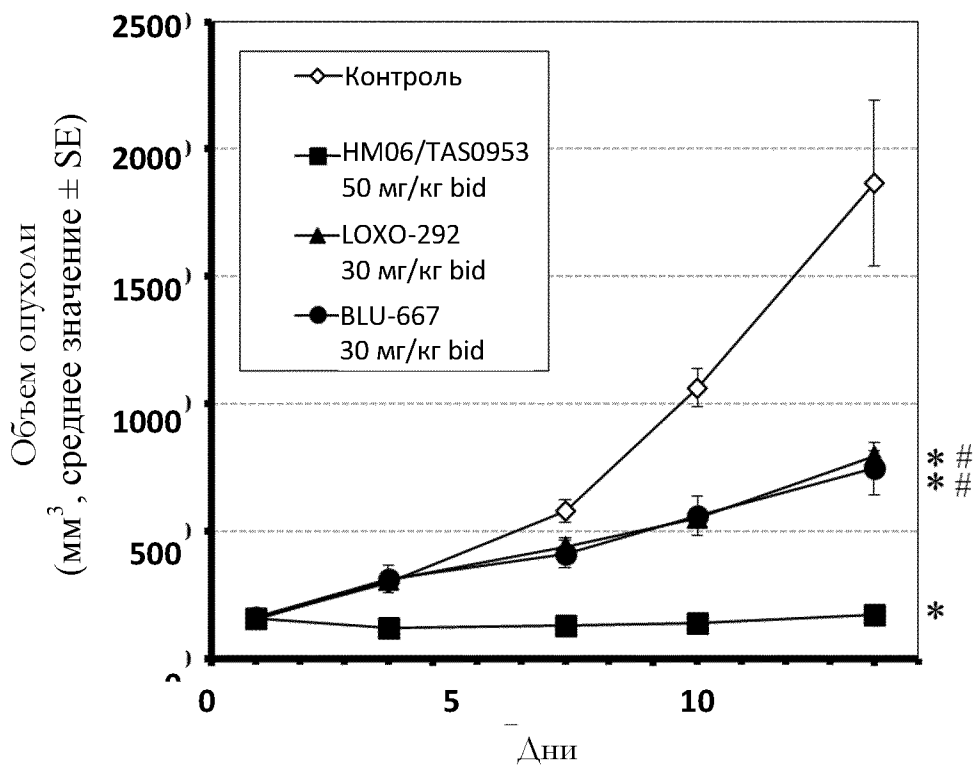
Фиг. 13А



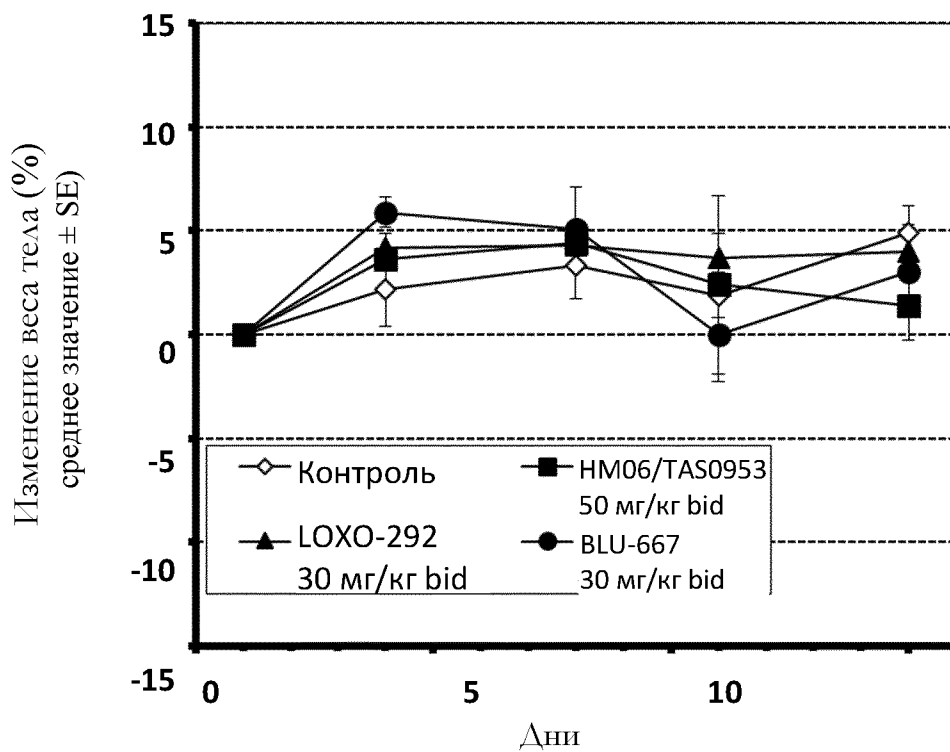
Фиг. 13Б



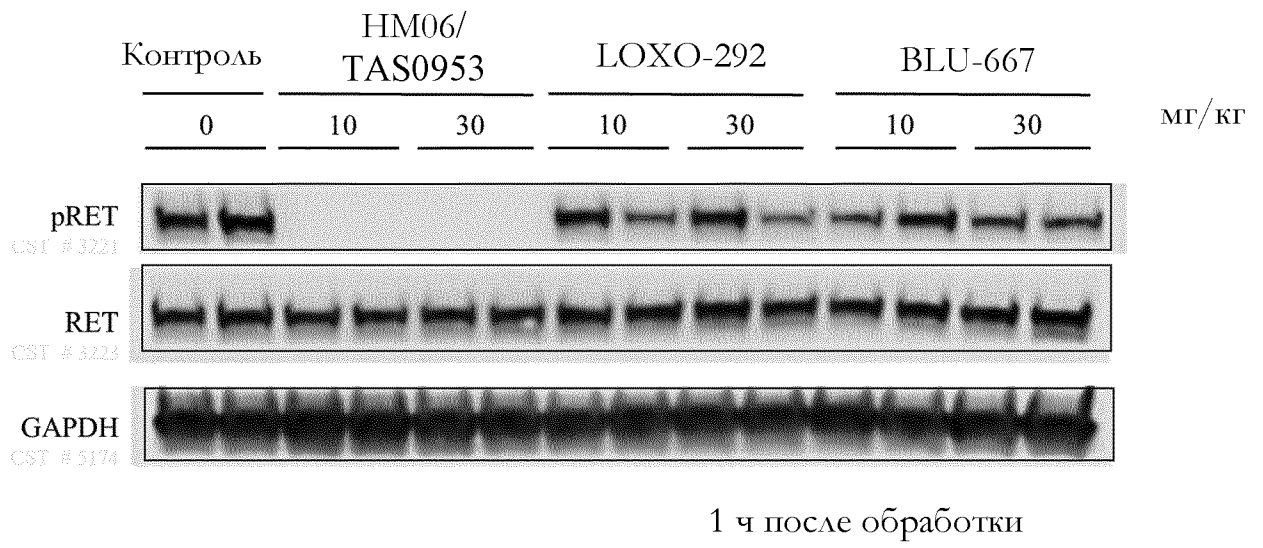
Фиг. 13В



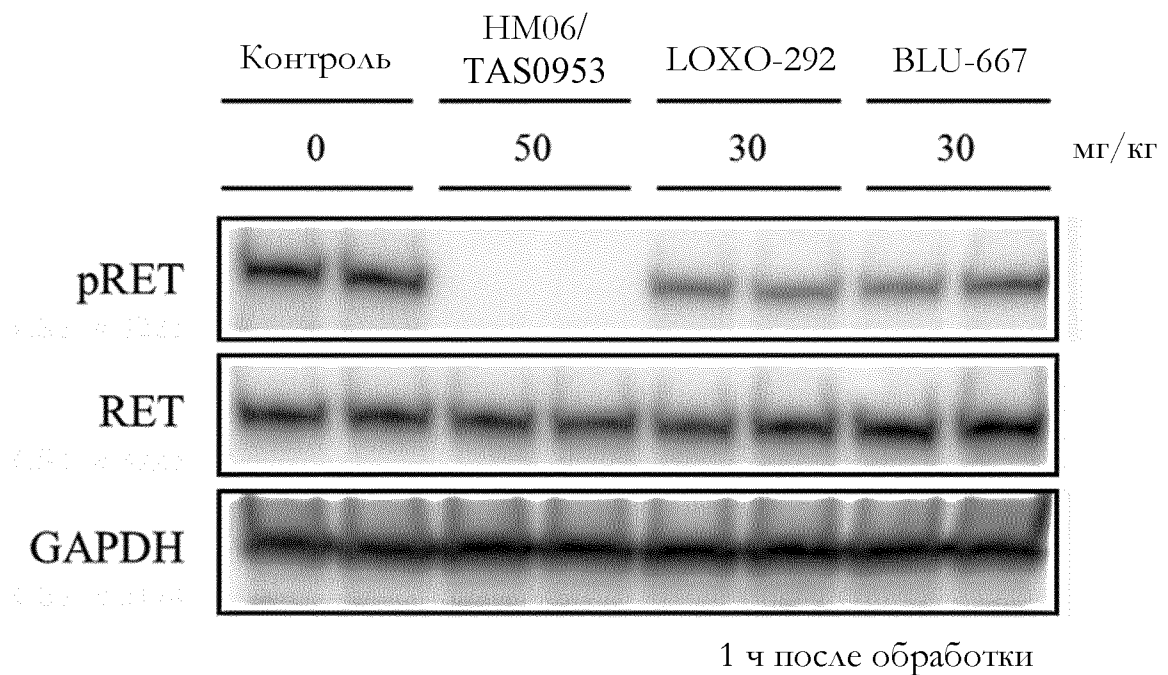
Фиг. 14А



Фиг. 14Б



Фиг. 15А



Фиг. 15Б