

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **046068**

(13) **B1**

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

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2024.02.05**

(21) Номер заявки  
**202091763**

(22) Дата подачи заявки  
**2019.01.31**

(51) Int. Cl. **A61K 31/155** (2006.01)  
**A61K 31/4375** (2006.01)  
**A61P 43/00** (2006.01)

---

(54) **КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МАСТОЦИТОЗА**

---

(31) **62/624,453**

(32) **2018.01.31**

(33) **US**

(43) **2020.12.14**

(86) **PCT/US2019/016161**

(87) **WO 2019/152719 2019.08.08**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**ДЕСИФЕРА ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,  
ЭЛЭЛСИ (US)**

(72) Изобретатель:  
**Флинн Дэниел Л., Смит Брайан Д.,  
Гупта Ану (US)**

(74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

(56) SCHNEEWEISS MATHIAS A ET AL.:  
"The Multi-Kinase Inhibitor DCC-2618 Inhibits  
Proliferation and Survival of Neoplastic Mast  
Cells and Other Cell Types Involved in Systemic  
Mastocytosis", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF  
HEMATOLOGY, US, vol. 128, № 22, 2 December  
2016 (2016-12-02), p. 1965, XP009502805, ISSN:  
0006-4971, the whole document

US-A1-2015320759  
US-A1-2014147415

MATHIAS SCHNEEWEISS ET AL.:  
"The KIT and PDGFRA switch-control  
inhibitor DCC-2618 blocks growth and  
survival of multiple neoplastic cell types  
in advanced mastocytosis", HAEMATOLOGICA,  
THE HEMATOLOGY JOURNAL: OFFICIAL  
ORGAN OF THE EUROPEAN HEMATOLOGY  
ASSOCIATION, vol. 103, № 5, 1 May 2018  
(2018-05-01), p. 799-809, XP055578687, IT, ISSN:  
0390-6078, DOI: 10.3324/haematol.2017.179895, p.  
807, right-hand column, paragraph 3, abstract

(57) Изобретение относится к применению 1-[4-бром-5-[1-этил-7-(метиламино)-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил]-2-фторфенил]-3-фенилмочевины, или 1-(5-(7-амино-1-этил-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил)-4-бром-2-фторфенил)-3-фенилмочевины, или их фармацевтически приемлемой соли в комбинации с ингибитором пути MAPKAP, таким как, например, ингибитор RAS, RAF, MEK или ERK, для лечения мастоцитоза.

**B1**

**046068**

**046068 B1**

### Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет по заявке на патент США № 62/624453, поданной 31 января 2018 г., которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

#### Уровень техники

c-KIT (также известный как KIT, CD117 и рецептор фактора роста стволовых клеток) представляет собой трансмембранный белок весом 145 кДа, представляющий собой тирозинкиназу, который выполняет функцию рецептора III типа. Протоонкоген c-KIT, расположенный на хромосоме 4q11-21, кодирует рецептор c-KIT, лиганд которого представляет собой фактор роста стволовых клеток (SCF, стальной фактор, лиганд kit, фактор роста тучных клеток). Рецептор обладает активностью белка, представляющего собой тирозинкиназу, и связывание лиганда SCF приводит к аутофосфорилированию c-KIT и его связыванию с субстратами, такими как фосфатидилинозитол-3-киназа (PI3K). Фосфорилирование тирозина протеинтирозинкиназами является особенно важным в передаче сигнала в клетке и может опосредовать передачу сигналов для основных клеточных процессов, таких как пролиферация, выживаемость, дифференциация, апоптоз, прикрепление, инвазивность и миграция.

Ген рецептора тирозинкиназы c-KIT является критически важным для роста тучных клеток, поддержания жизнедеятельности, дифференциации и гомеостаза. Активирующие мутации или сверхэкспрессия гена c-KIT усиливают способность рецептора c-KIT стимулировать внутриклеточные пути, приводящие к нарушенной пролиферации тучных клеток.

Мастоцитоз представляет собой редкое нарушение, характеризующееся аномальными накоплениями тучных клеток (MC) в коже, костном мозге и внутренних органах (например, печени, селезенке, желудочно-кишечном тракте и лимфатических узлах). Случаи, когда заболевание начинается во взрослом возрасте, как правило, оказываются хроническими и в дополнение к коже затрагивают костный мозг, при этом в детском возрасте состояние часто характеризуется кожными проявлениями без затрагивания внутренних органов и могут часто исчезать во время полового созревания. У большинства взрослых пациентов мастоцитоз является трудноизлечимым, и он может прогрессировать в более запущенную степень у меньшей части пациентов. Мастоцитоз можно отнести к конкретному типу в зависимости от симптомов и общих проявлений у пациента. Типы мастоцитоза включают кожный мастоцитоз (например, макулопапулезный кожный мастоцитоз, мастоцитому и диффузный кожный мастоцитоз) и системный мастоцитоз (например, индолентный системный мастоцитоз (ISM), вялотекущий системный мастоцитоз (SSM), системный мастоцитоз с ассоциированным заболеванием, связанным с линией дифференцировки клональных гематологических клеток, отличных от тучных клеток (SM-AHN), агрессивный системный мастоцитоз (ASM), лейкоз из тучных клеток (MCL) и саркома из тучных клеток). В редких случаях разрастание агрессивных неопластических тучных клеток приводит к функциональной недостаточности внутренних органов, при этом у пациентов в значительной степени снижается продолжительность жизни и им требуется циторедуктивная терапия. Было обнаружено, что патологическое накопление неопластических тучных клеток, обусловленное онкогенными мутациями c-KIT, является причиной системного мастоцитоза. Преобладающая активирующая мутация KIT представляет собой замещение аспарагиновой кислоты валином в остатке 816 (KIT D816V). Пациенты с системным мастоцитозом, тучные клетки которых часто содержат активирующую мутацию D816V c-KIT, могут иметь форму заболевания от индолентной до агрессивной, и они могут испытывать связанные с высвобождением медиатора тучных клеток симптомы. Индолентный системный мастоцитоз с возвратной анафилаксией или сосудистым коллапсом в отсутствие повреждений кожи представляет собой конкретный подтип индолентного системного мастоцитоза, и данное нарушение активации клональных MC составляет значительную часть всех синдромов, связанных с активацией тучных клеток. Мутация V560G KIT является чрезвычайно редкой у пациентов с системным мастоцитозом и ее биологическое и прогностическое влияние не ясны. В настоящее время большинство ингибиторов тирозинкиназ продемонстрировали лишь умеренную эффективность на запущенных стадиях заболевания и сопровождаются значительными побочными эффектами. Кроме того, некоторые агрессивные мутации KIT, включая мутацию KIT D816V, являются устойчивыми к классическим АТР-конкурентным ингибиторам KIT, таким как иматиниб, сунитиниб, сорафениб и регорафениб. Мидостаурин, ингибитор D816V c-KIT, недавно был одобрен для лечения SM в 2017 г.

Хотя мутация c-KIT D816V представляет собой первичную мутацию c-KIT, описанную в качестве определяющего фактора системного мастоцитоза (SM), вторичные мутации c-KIT, которые придают устойчивость к некоторым ингибиторам c-KIT ("вторичные мутации c-KIT, обеспечивающие устойчивость"), также описаны у пациентов с мастоцитозом, включая, например, точечную мутацию Y269C, Y503\_F504insAY, V560D или K642E, делецию или вставку внутри рамки считывания или миссенс-мутацию в гене c-KIT.

Активирующие мутации или сверхэкспрессия гена c-KIT связаны с пролиферацией неопластических тучных клеток. Учитывая комплексную функцию c-KIT и потенциальную применимость ингибиторов c-KIT в лечении устойчивого к лекарственному средству систематического мастоцитоза, существует потребность в ингибиторах и терапевтических средствах лечения с преимущественными терапевтическими свойствами.

### Краткое описание

Настоящее изобретение частично относится к применению ингибитора с-KIT, например 1-[4-бром-5-[1-этил-7-(метиламино)-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил]-2-фторфенил]-3-фенилмочевины (соединения А), и ингибитора пути MAPKAP, например ингибитора MEK, такого как траметиниб, или ингибитора ERK, такого как уликсертиниб, или ингибитора RAF, такого как LY3009120, для индуцирования апоптоза клеток мастоцитоза.

Также в настоящем изобретении предусмотрены способы лечения мастоцитоза у пациента, нуждающегося в этом, включающие введение пациенту

эффективного количества ингибитора с-KIT, например 1-[4-бром-5-[1-этил-7-(метиламино)-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил]-2-фторфенил]-3-фенилмочевины (соединения А, описанного в данном документе); и

эффективного количества ингибитора митоген-активируемой протеинкиназы (ингибитора MEK) и/или эффективного количества ингибитора регулируемой внеклеточными сигналами киназы (ингибитора ERK).

Например, в данном документе предусмотрен способ лечения системного мастоцитоза у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту эффективного количества 1-[4-бром-5-[1-этил-7-(метиламино)-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил]-2-фторфенил]-3-фенилмочевины или ее фармацевтически приемлемой соли и эффективного количества ингибитора митоген-активируемой протеинкиназы (ингибитора MEK) или ингибитора ERK.

Также в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения мастоцитоза у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту эффективного количества ингибитора с-KIT и эффективного количества ингибитора RAF.

### Краткое описание графических материалов

На фиг. 1А показаны графические представления пролиферации клеток после указанной обработки лекарственным средством с соединением А по сравнению с контролем со средой-носителем у линий клеток HMC1.1 V560G (левая панель) и HMC1.2 V560G/D816V (правая панель).

На фиг. 1В показаны графические представления пролиферации клеток после указанной обработки лекарственным средством с соединением В по сравнению с контролем со средой-носителем у линий клеток HMC1.1 V560G (левая панель) и HMC1.2 V560G/D816V (правая панель).

На фиг. 2А показано графическое представление активности каспазы после указанных различных видов обработки соединением А и траметинибом у линии клеток HMC1.2 V560G/D816V.

На фиг. 2В представлена таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности, для различных видов обработки соединением А и траметинибом у линии клеток HMC1.2 V560G/D816V.

На фиг. 2С представлен график с показателями аддитивности для комбинации соединения А с траметинибом, представляющим собой ингибитор MEK.

На фиг. 3А показано графическое представление активности каспазы после указанных различных видов обработки соединением В и траметинибом у линии клеток HMC1.2 V560G/D816V.

На фиг. 3В представлена таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности, для различных видов обработки соединением В и траметинибом у линии клеток HMC1.2 V560G/D816V.

На фиг. 3С представлен график с показателями аддитивности для комбинации соединения В с траметинибом, представляющим собой ингибитор MEK.

На фиг. 4А показано графическое представление активности каспазы после указанных различных видов обработки соединением А и биниметинибом у линии клеток HMC1.2 V560G/D816V.

На фиг. 4В представлена таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности, для различных видов обработки соединением А и биниметинибом у линии клеток HMC1.2 V560G/D816V.

На фиг. 4С представлен график с показателями аддитивности для комбинации соединения А с биниметинибом, представляющим собой ингибитор MEK.

На фиг. 5А показано графическое представление активности каспазы после указанных различных видов обработки соединением В и биниметинибом у линии клеток HMC1.2 V560G/D816V.

На фиг. 5В представлена таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности, для различных видов обработки соединением В и биниметинибом у линии клеток HMC1.2 V560G/D816V.

На фиг. 5С представлен график с показателями аддитивности для комбинации соединения В с биниметинибом, представляющим собой ингибитор MEK.

На фиг. 6А показано графическое представление активности каспазы после указанных различных видов обработки соединением А и биниметинибом у линии клеток HMC1.2 V560G/D816V.

На фиг. 6В представлена таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых





### Подробное описание

Было обнаружено, что комбинация ингибитора с-KIT, например 1-[4-бром-5-[1-этил-7-(метиламино)-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил]-2-фторфенил]-3-фенилмочевины (соединения А), и ингибитора пути MAPKAP, например траметиниба, представляющего собой ингибитор MEK, или уликсертиниба, представляющего собой ингибитор ERK, или LY3009120, представляющего собой ингибитор RAF, неожиданно имеет синергический эффект в отношении индуцирования апоптоза клеток мастоцито-за, продемонстрированный в сопутствующих примерах. Кроме того, способы комбинированной терапии, раскрытые в данном документе, проявляют цитоцидное действие, а не только цитостатическое.

Не желая ограничиваться какой-либо конкретной теорией, полагают, что многие ингибиторы с-KIT ингибируют только определенные мутантные формы с-KIT и не ингибируют эффективно мутацию с-KIT D816V, которая является причиной SM. Настоящее изобретение предусматривает способы лечения с-KIT-опосредованного мастоцитоза путем ингибирования как с-KIT, так и MEK с применением ингибитора с-KIT в комбинации с ингибитором пути MAPKAP. В конкретных вариантах осуществления ингибитор с-KIT раскрыт в данном документе как соединение А или его фармацевтически приемлемая соль, соединение В или его фармацевтически приемлемая соль, мидостаурин или его фармацевтически приемлемая соль, BLU-285 или его фармацевтически приемлемая соль, PLX9486 или его фармацевтически приемлемая соль, или креноланиб или его фармацевтически приемлемая соль. Неожиданно ингибитор с-KIT, например соединение А и соединение В (и их фармацевтически приемлемые соли), имеет синергический эффект с ингибитором MEK, ERK, или RAF в отношении ингибирования пролиферации и индуцирования апоптоза клеток мастоцитоза.

Соответственно, в определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способы индуцирования индуцирования цитоцидного уничтожения тучных клеток, индуцирования апоптоза тучных клеток, ингибирования роста или пролиферации тучных клеток, ингибирования высвобождения медиатора тучных клеток, снижения количества накопленных тучных клеток в ткани или органе, снижения объема связанной с мастоцитозом опухоли, такой как лейкоз из тучных клеток или саркома из тучных клеток, и/или ингибирования повторного роста тучных клеток путем приведения в контакт тучных клеток, например тучных клеток, содержащих мутацию с-KIT, с ингибитором с-KIT и ингибитором пути MAPKAP. В различных вариантах осуществления тучные клетки приводят в контакт *in vitro*, *in vivo* или *ex vivo*. В конкретных вариантах осуществления

ингибитор с-KIT раскрыт в данном документе как соединение А или его фармацевтически приемлемая соль, соединение В или его фармацевтически приемлемая соль, мидостаурин или его фармацевтически приемлемая соль, BLU-285 или его фармацевтически приемлемая соль, PLX9486 или его фармацевтически приемлемая соль или креноланиб или его фармацевтически приемлемая соль; и

ингибитор MEK раскрыт в данном документе как траметиниб, кобиметиниб, селуметиниб или биниметиниб;

ингибиторы ERK включают без ограничения уликсертиниб, SCH772984, LY3214996, равоксертиниб и VX-11e, и ингибиторы RAF включают без ограничения LY3009120, вемурафениб или дабрафениб.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способы лечения субъекта, у которого имеется мастоцитоз, лейкоз из тучных клеток или острый миелоидный лейкоз, включающие введение субъекту эффективного количества

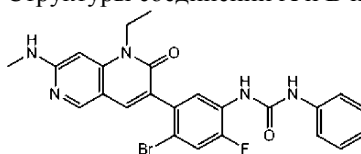
(i) ингибитора KIT, например 1-[4-бром-5-[1-этил-7-(метиламино)-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил]-2-фторфенил]-3-фенилмочевины или ее фармацевтически приемлемой соли или 1-(5-(7-амино-1-этил-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил)-4-бром-2-фторфенил)-3-фенилмочевины или ее фармацевтически приемлемой соли; и

(ii) ингибитора пути MAPKAP, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба.

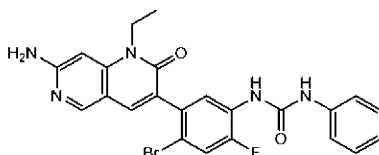
В конкретных вариантах осуществления любого из способов, раскрытых в данном документе, мастоцитоз представляет собой системный мастоцитоз, возникший в результате мутации D816V в гене с-KIT у тучных клеток.

Определения.

Термин "соединения А и В", используемый в данном документе, относится к 1-[4-бром-5-[1-этил-7-(метиламино)-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил]-2-фторфенил]-3-фенилмочевине и 1-(5-(7-амино-1-этил-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил)-4-бром-2-фторфенил)-3-фенилмочевине соответственно. Фармацевтически приемлемые соли, таутомеры, гидраты и сольваты соединений А и В также предусмотрены в настоящем изобретении. Структуры соединений А и В представлены ниже.



1-[4-бром-5-[1-этил-7-(метиламино)-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил]-2-фторфенил]-3-фенилмочевина (соединение А);



1-(5-(7-амино-1-этил-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил)-4-бром-2-фторфенил)-3-фенилмочевина (соединение В).

Способы получения соединения А и соединения В раскрыты в US 8461179B1, содержание которого включено в данный документ посредством ссылки.

Иллюстративный способы и материалы описаны в данном документе. В настоящем описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа также включают множественное число, если контекст явно не указывает иное. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют такое же значение, как обычно понимается специалистом в данной области техники.

По всему настоящему раскрытию приведены в качестве ссылок различные патенты, заявки на патент и публикации. Раскрытия таких патентов, заявок на патенты и публикаций во всей их полноте включены в настоящее раскрытие посредством ссылки для более полного описания уровня техники, известного специалистам в данной области техники на дату настоящего раскрытия. Настоящее раскрытие будет определяющим в случае, если имеется любое несоответствие между патентами, заявками на патент и публикациями и настоящим раскрытием.

Из соображений удобства определенные термины, используемые в описании, примерах и формуле изобретения, собраны в данной части. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем раскрытии, имеют такие же значения, как обычно понимается специалистом в данной области техники, к которой принадлежит настоящее изобретение. Первоначальное определение, предусмотренное для группы или термина, приведенных в настоящем раскрытии, применимо к этой группе или термину по всему настоящему раскрытию отдельно или в качестве части другой группы, если не указано иное.

Термин "фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество" включает без ограничения любой адъювант, носитель, вспомогательное вещество, вещество, способствующее скольжению, подсластитель, разбавитель, консервант, краситель/красящее вещество, интенсификатор вкуса и аромата, поверхностно-активное вещество, смачивающее средство, диспергирующее средство, суспендирующее средство, стабилизатор, изотоническое средство, растворитель или эмульгатор, который был одобрен Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США как являющийся приемлемым для применения в отношении людей или домашних животных.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" включает соли присоединения кислоты.

Термин "фармацевтически приемлемая соль присоединения кислоты" относится к таким солям, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства свободных оснований, которые не являются нежелательными с биологической или иной точки зрения и которые образованы с неорганическими кислотами, такими как без ограничения хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота и т.п., и органическими кислотами, такими как без ограничения уксусная кислота, 2,2-дихлоруксусная кислота, адипиновая кислота, альгиновая кислота, аскорбиновая кислота, аспарагиновая кислота, бензолсульфоновая кислота, бензойная кислота, 4-ацетамидобензойная кислота, камфорная кислота, камфор-10-сульфоновая кислота, каприновая кислота, капроновая кислота, каприловая кислота, угольная кислота, коричная кислота, лимонная кислота, цикламовая кислота, додецилсерная кислота, этан-1,2-дисульфоновая кислота, этансульфоновая кислота, 2-гидроксиэтансульфоновая кислота, муравьиная кислота, фумаровая кислота, галактаровая кислота, гентизиновая кислота, глюкогептоновая кислота, глюконовая кислота, глюкуроновая кислота, глутаминовая кислота, глутаровая кислота, 2-оксоглутаровая кислота, глицеринофосфорная кислота, гликолевая кислота, гиппуровая кислота, изомасляная кислота, молочная кислота, лактобионовая кислота, лауриновая кислота, малеиновая кислота, яблочная кислота, малоновая кислота, миндальная кислота, метансульфоновая кислота, муциновая кислота, нафталин-1,5-дисульфоновая кислота, нафталин-2-сульфоновая кислота, 1-гидрокси-2-нафтойная кислота, никотиновая кислота, олеиновая кислота, оротовая кислота, щавелевая кислота, пальмитиновая кислота, памоевая кислота, пропионовая кислота, пироглутаминовая кислота, пировиноградная кислота, салициловая кислота, 4-аминосалициловая кислота, себациновая кислота, стеариновая кислота, янтарная кислота, винная кислота, тиоциановая кислота, п-толуолсульфоновая кислота, трифторуксусная кислота, ундециленовая кислота и т.п.

Термин "фармацевтическая композиция" относится к составу на основе соединения, описанного в данном документе (например, соединения А или его фармацевтически приемлемой соли), и среды, обычно приемлемой в данной области техники для доставки биологически активного соединения для млекопитающих, например людей. Такая среда включает все фармацевтически приемлемые носители, разбавители или вспомогательные вещества, предназначенные для нее.

Термин "ингибитор пути MAPKAP" означает ингибитор сигнального пути MAP-киназы. Ингибито-

ры данного пути включают ингибиторы RAS, ингибиторы RAF (например, вемурафениб, дабрафениб, LY3009120), ингибиторы MEK (например, траметиниб, биниметиниб, кобиметиниб) и ингибиторы ERK (например, уликсертиниб).

Субъекты или пациенты "нуждающиеся в лечении" с помощью комбинированной терапии по настоящему изобретению, например, ингибитора с-KIT в комбинации с ингибитором пути MAPKAP, включают субъектов с заболеваниями и/или состояниями, которые можно лечить с помощью комбинации, раскрытой в данном документе, с достижением благоприятного терапевтического результата, например, с мастоцитозом, лейкозом из тучных клеток или острым миелоидным лейкозом. Положительный результат в лечении мастоцитоза может включать полный ответ, частичный ответ, клиническое улучшение или стабильное заболевание, определенное критерием IWG-MRT-ECNM (Gotlib et al., Blood, 2013, 121:2393-401). В определенных вариантах осуществления субъект, нуждающийся в лечении, страдает кожным мастоцитозом (например, макулопапулезным кожным мастоцитозом, мастоцитомой и диффузным кожным мастоцитозом) или системным мастоцитозом (например, индолентным системным мастоцитозом, вялотекущим системным мастоцитозом, системным мастоцитозом с ассоциированным заболеванием, связанным с линией дифференцировки клональных гематологических клеток, отличных от тучных клеток, агрессивным системным мастоцитозом, лейкозом из тучных клеток и саркомой из тучных клеток). В конкретных вариантах осуществления субъекты представляют собой млекопитающих, например людей или других млекопитающих.

Термин "эффективное количество" при использовании в связи с соединением или другим терапевтическим средством, раскрытым в данном документе, относится к количеству терапевтического средства, например соединения А или ингибитора пути MAPKAP, по отдельности или в комбинации, которое является применимым для лечения или предупреждения заболевания или нарушения. Эффективное количество терапевтических средств, применяемых в комбинированной терапии, представляет собой количество каждого из терапевтических средств, которое является применимым для лечения или предупреждения заболевания или нарушения при применении в комбинированной терапии, даже если количество одного из терапевтических средств или обоих в отсутствие другого терапевтического средства является неэффективным для лечения или предупреждения заболевания или нарушения. В определенных вариантах осуществления эффективное количество представляет собой количество, которое приводит к индуцированию цитотоксического уничтожения тучных клеток, индуцированию апоптоза тучных клеток, снижению количества накопленных тучных клеток в ткани или органе, снижению тяжести симптомов мастоцитоза, ингибированию высвобождения медиатора тучных клеток, ингибированию роста тучных клеток и/или индуцированию регрессии мастоцитоза, где тучные клетки содержат активирующие мутации в киназе с-KIT, включая активирующую мутацию с-KIT D816V. Термин "эффективное количество" может варьироваться в зависимости от способа введения, конкретной локализации заболевания или нарушения, а также возраста, веса тела и общего состояния здоровья субъекта. Количество вводимых соединений будет зависеть от степени, тяжести и типа заболевания или состояния, количества необходимого терапевтического средства и характеристик высвобождения фармацевтического(их) состава(ов). Оно будет зависеть от состояния здоровья, размера, веса, возраста, пола субъекта и переносимости лекарственных средств субъектом. Как правило, соединения вводят в течение периода времени, достаточного для достижения требуемого терапевтического эффекта.

Термины "лечение", "лечить" и "осуществление лечения" означают включение полного спектра вмешательства у пациентов, лечение которых осуществляют, например пациентов с мастоцитозом или острым миелоидным лейкозом (AML). Осуществление лечения может способствовать выздоровлению, улучшению или по меньшей мере частичному снижению тяжести нарушения. В конкретных вариантах осуществления лечение проводят с целью индуцирования цитотоксического уничтожения тучных клеток, индуцирования апоптоза тучных клеток, снижения количества накопленных тучных клеток в ткани или органе, снижения тяжести симптомов мастоцитоза, ингибирования высвобождения медиатора тучных клеток, ингибирования роста тучных клеток и/или индуцирования регрессии мастоцитоза у субъекта, лечение которого осуществляют. В определенных вариантах осуществления лечение с помощью комбинированной терапии, раскрытой в данном документе, обеспечивает ослабление, замедление или обратное развитие одного или более симптомов мастоцитоза и/или индуцирование регрессии мастоцитоза, даже если мастоцитоз фактически не устранен. В некоторых вариантах осуществления лечение включает полное устранение заболевания или нарушения, например мастоцитоза или AML. В других вариантах осуществления лечение приводит к полному ответу, частичному ответу, клиническому улучшению или стабильному заболеванию, определенному критерием IWG-MRT-ECNM (Gotlib et al., Blood, 2013, 121:2393-401).

Термин "тучные клетки", используемый в данном документе, включает тучные клетки (также называемые мастоцитами) и клетки-предшественники CD34+ тучных клеток.

Термин "новообразование", используемый в данном документе, относится к патологической ткани, которая растет посредством клеточной пролиферации быстрее, чем нормальная. Новообразования демонстрируют частичное или полное отсутствие структурной организации и функциональной координации с нормальной тканью и обычно образуют отчетливую массу ткани, которая может быть либо доброкачественной (доброкачественной опухолью) или злокачественной (раком).



Термин "опухоль", используемый в данном документе, относится к массе. Это термин, который может относиться к доброкачественным (обычно безвредным) или злокачественным (раковым) новообразованиям. Злокачественный рост может возникать в цельном органе или костном мозге. Последний часто называется опухолями жидких тканей. Термин "опухоль" охватывает виды лейкоза из тучных клеток и виды саркомы из тучных клеток, вместе называемые в данном документе "мастоцитозными опухолями".

В определенных вариантах осуществления терапевтический эффект лечения мастоцитоза в соответствии со способами, раскрытыми в данном документе, можно измерить с применением критерия стандартного ответа, известного из уровня техники. Например, термин "критерий ответа для полной ремиссии (CR), частичной ремиссии (PR), клинического улучшения (CI) или стабильного заболевания (SD)", применяемый для количественного определения эффектов терапии в отношении агрессивного системного мастоцитоза, лейкоза из тучных клеток и системного мастоцитоза, ассоциированного с миелоидным новообразованием, может означать любой из тех критериев, которые определены IWG-MRT-ECNM (Gottlieb et al., Blood, 2013, 121:2393-401). Например,

для полной ремиссии (CR) требуются все 4 критерия и продолжительность ответа должна составлять  $\geq 12$  недель, при этом должны отсутствовать компактные агрегаты неопластических тучных клеток в ВМ или другом внекожном органе, для которого проведена биопсия; уровень триптазы в сыворотке крови  $< 20$  нг/мл, подсчитанное значение ремиссии по периферической крови, определенное как ANC  $\geq 1 \times 10^9/\text{л}$  с нормальным дифференциалом, уровень Hb  $\geq 11$  г/дл и количество тромбоцитов  $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$ , и при этом полное разрешение пальпируемой гепатоспленомегалии и всех подтвержденных с помощью биопсии или предполагаемых повреждений органов, связанных с SM (проявления CI);

для частичной ремиссии (PR)\* требуются все 3 критерия и продолжительность ответа должна составлять  $\geq 12$  недель при отсутствии как CR, так и прогрессирующего заболевания (PD) со снижением на  $\geq 50\%$  количества неопластических МС в костном мозге и/или другом внекожном органе при продемонстрированном с помощью биопсии подходящем повреждении органов, связанном с SM, снижение уровня триптазы в сыворотке крови на  $\geq 50\%$  и разрешение 1 или более подтвержденных с помощью биопсии или предполагаемых повреждений органов, связанных с SM (проявление(я) CI);

клиническое улучшение (CI) имеет место в случае, когда продолжительность ответа должна составлять  $\geq 12$  недель, при этом требуется удовлетворение 1 или более из критериев негематологического и/или гематологического ответа в отсутствие также CR/PR и перехода заболевания в хроническую форму или прогрессирующего заболевания (PD). Стабильное заболевание (SD) не удовлетворяет критериям CR, PR, CI или PD.

Руководства по оценке ответа включают

- (1) только связанное с заболеванием повреждение органов  $\geq 2$  степени оценивается как первичная конечная точка в клинических испытаниях;
- (2) оценки ответов при CR, PR, SD, PD и снижение или ответ (LOR) в контексте испытаний должны применяться только к таким проявлениям повреждений органов  $\geq 2$  степени;
- (3) статус заболевания на момент времени удаления пациента из исследования отдельно связан с обновленным статусом начального(ых) проявления(ий) повреждений органов  $\geq 2$  степени;
- (4) диагностику методом исключения в отношении токсичности, связанной с лекарственным средством, и/или других клинических проблем (например, кровотечения в желудочно-кишечном тракте в случае ухудшения анемии/зависимости от трансфузий) следует провести до определения категории PD или LOR у пациента с ухудшением исходного уровня повреждений органов  $\geq 2$  степени.

В определенных вариантах осуществления терапевтический эффект лечения AML в соответствии со способами, раскрытыми в данном документе, можно измерить с применением критерия стандартного ответа, известного из уровня техники. Например, термин "критерий ответа для лечения AML", применяемый для количественного определения эффектов терапии в отношении AML, может означать любой из тех критериев, которые определены ниже, включая полную ремиссию (CR) без минимального остаточного заболевания ( $CR_{MRD}$ ) полную ремиссию (CR), CR с неполным гематологическим восстановлением ( $CR_i$ ), морфологическое состояние без лейкоза (MLFS), частичную ремиссию (PR), стабильное заболевание (SD) или прогрессирующее заболевание (PD), как определено в Blood, 2017 Jan 26, 129(4):424-447 и обобщено как полная ремиссия без минимального остаточного заболевания ( $CR_{MRD}$ ). Если изучали предварительное лечение CR с отрицательным результатом по генетическому маркеру посредством RT-qPCR или CR с отрицательным результатом по MFC, то полная ремиссия (CR) предусматривает содержание бластов в костном мозге  $< 5\%$ ; отсутствие циркулирующих бластов и бластов с тельцами Ауэра; отсутствие экстрамедуллярного заболевания; абсолютное количество нейтрофилов (ANC)  $\geq 1,0 \times 10^9/\text{л}$  (1000/мкл); количество тромбоцитов  $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$  (100000/мкл); CR с неполным гематологическим восстановлением ( $CR_i$ ) предусматривает все критерии для CR за исключением остаточной нейтропении ( $< 1,0 \times 10^9/\text{л}$  [1000/мкл]) или тромбоцитопении ( $< 100 \times 10^9/\text{л}$  [100000/мкл]); морфологическое состояние без лейкоза (MLFS) предусматривает содержание бластов в костном мозге  $< 5\%$ ; отсутствие бластов с тельцами Ауэра; отсутствие экстрамедуллярного заболевания; гематологическое восстановление не требует-

ся; частичная ремиссия (PR) предусматривает все гематологические критерии для CR; снижение процентного значения содержания бластов в костном мозге от 5 до 25%; и снижение процентного значения содержания бластов в костном мозге при предварительном лечении на по меньшей мере 50%.

Термин "комбинированная терапия" означает лечение, которое предусматривает введение пациенту двух или более терапевтических средств, например ингибитора с-KIT (такого как соединение А или его фармацевтически приемлемая соль, мидостаурин, BLU-285, PLX9486 или креноланиб) и ингибитора пути МАРКАР (включая без ограничения траметиниб, кобиметиниб, селуметиниб, биниметиниб, уликсертиниб, LY3009120). Два или более терапевтических средств можно доставлять одновременно, например, в отдельных фармацевтических композициях или в той же фармацевтической композиции, или их можно доставлять в различные моменты времени. Например, их можно доставлять одновременно или в течение перекрывающихся периодов времени и/или одно терапевтическое средство можно доставлять до или после другого(их) терапевтического(их) средства(средств). Лечение комбинацией ингибитора KIT, такого как соединение А, и ингибитора пути МАРКАР необязательно включает лечение любым отдельным средством с предшествующим или с последующим периодом одновременного лечения обоими средствами. Однако предполагается, что в течение некоторого периода времени эффективные количества двух или более терапевтических средств присутствуют в организме пациента.

Способы лечения.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает способы лечения или предупреждения мастоцитоза, необязательно с-KIT-опосредованного мастоцитоза, например системного мастоцитоза (SM), включающие предоставление или введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества ингибитора с-KIT в комбинации с эффективным количеством ингибитора пути МАРКАР, например траметиниба, кобиметиниба, селуметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120. В одном варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает способы лечения или предупреждения мастоцитоза, необязательно с-KIT-опосредованного мастоцитоза, например системного мастоцитоза (SM), включающие предоставление или введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения А (или его фармацевтически приемлемой соли) или соединения В (или его фармацевтически приемлемой соли) в комбинации с эффективным количеством ингибитора пути МАРКАР, например траметиниба, кобиметиниба, селуметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120. В родственном варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает способы лечения или предупреждения мастоцитозной опухоли, необязательно с-KIT-опосредованной мастоцитозной опухоли, например лейкоза из тучных клеток или саркомы из тучных клеток, включающие предоставление или введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества ингибитора с-KIT в комбинации с эффективным количеством ингибитора пути МАРКАР, например траметиниба, кобиметиниба, селуметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120. В родственном варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает способы лечения или предупреждения мастоцитозной опухоли, необязательно с-KIT-опосредованной мастоцитозной опухоли, например лейкоза из тучных клеток или саркомы из тучных клеток, включающие предоставление или введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения А (или его фармацевтически приемлемой соли) или соединения В (или его фармацевтически приемлемой соли) в комбинации с эффективным количеством ингибитора пути МАРКАР, например траметиниба, кобиметиниба, селуметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120.

В другом примере настоящее изобретение предусматривает способ лечения мастоцитоза у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту эффективного количества ингибитора с-KIT и эффективного количества одного или более ингибиторов пути МАРКАР. Такой ингибитор пути МАРКАР может быть выбран из группы, состоящей из ингибитора киназы быстро прогрессирующей фибросаркомы (RAF), ингибитора митоген-активируемой протеинкиназы (ингибитора MEK) и ингибитора киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (ингибитора ERK).

В одном варианте осуществления такого раскрытого способа мастоцитоз характеризуется мутацией с-KIT. В некоторых вариантах осуществления мутация с-KIT представляет собой активирующую мутацию.

В другом варианте осуществления мастоцитоз может предусматривать тучные клетки, содержащие первичную мутацию в экзоне 17 гена с-KIT. В некоторых вариантах осуществления первичная мутация представляет собой мутацию с-KIT D816. В некоторых вариантах осуществления первичная мутация представляет собой одну из D816V, D816Y, D816F, D816H, F522C, K509I, V560G, V559G и de4119. В некоторых вариантах осуществления первичная мутация представляет собой D816V.

Мастоцитоз может также предусматривать тучные клетки, содержащие вторичную мутацию с-KIT. В некоторых вариантах осуществления вторичная мутация с-KIT находится в одном из экзонов 9, 11, 13 или 17. В некоторых вариантах осуществления вторичная мутация с-KIT представляет собой одну из мутаций Y269C, Y503\_F504insAY, V560D или K642E.

Данный раскрытый способ может дополнительно включать определение того, характеризуется ли мастоцитоз первичной мутацией с-KIT. Например, способ дополнительно включает определение того, характеризуется ли мастоцитоз вторичной мутацией с-KIT. В некоторых вариантах осуществления определение того, характеризуется ли мастоцитоз первичной или вторичной мутацией с-KIT, включает иден-

тификацию мутаций в ДНК, выделенной из образца опухоли. В еще одном варианте осуществления определение того, характеризуется ли мастоцитоз первичной или вторичной мутацией с-KIT, включает идентификацию мутаций в циркулирующей опухолевой ДНК или идентификацию мутаций в лейкоцитах циркулирующей периферической крови.

Мастоцитоз может представлять собой системный мастоцитоз. В некоторых вариантах осуществления системный мастоцитоз выбран из группы, состоящей из индолентного системного мастоцитоза, вялотекущего системного мастоцитоза, системного мастоцитоза с ассоциированным заболеванием, связанным с линией дифференцировки клональных гематологических клеток, отличных от тучных клеток, агрессивного системного мастоцитоза, лейкоза из тучных клеток и саркомы из тучных клеток. В некоторых вариантах осуществления мастоцитоз представляет собой индолентный системный мастоцитоз, необязательно системный мастоцитоз с возвратной анафилаксией или сосудистым коллапсом в отсутствие повреждений кожи. В некоторых вариантах осуществления мастоцитоз представляет собой вялотекущий системный мастоцитоз.

В некоторых вариантах осуществления мастоцитоз представляет собой системный мастоцитоз с ассоциированным заболеванием, связанным с линией дифференцировки клональных гематологических клеток, отличных от тучных клеток. В некоторых вариантах осуществления мастоцитоз представляет собой агрессивный системный мастоцитоз. В некоторых вариантах осуществления мастоцитоз представляет собой лейкоз из тучных клеток или саркому из тучных клеток. В некоторых вариантах осуществления мастоцитоз представляет собой кожный мастоцитоз. В некоторых вариантах осуществления мастоцитоз выбран из группы, состоящей из макулопапулезного кожного мастоцитоза, мастоцитомы или диффузного кожного мастоцитоза.

В таком раскрытом способе ингибитор с-KIT может быть выбран из группы, состоящей из 1-[4-бром-5-[1-этил-7-(метиламино)-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил]-2-фторфенил]-3-фенилмочевины или ее фармацевтически приемлемой соли, мидостаурина или его фармацевтически приемлемой соли, иматиниба мезилата, сунитинаба малата, мидостаурина, регорафениба, креноланиба, РТХ9486 или BLU-285 (авапритиниба) или его фармацевтически приемлемой соли.

Кроме того, ингибитор MEK может быть выбран из группы, состоящей из траметиниба, селуметиниба, кобиметиниба и биниметиниба. В некоторых вариантах осуществления ингибитор MEK представляет собой биниметиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор MEK представляет собой траметиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор ERK выбран из группы, состоящей из уликсертиниба, SCH772984 и LY3214996. В некоторых вариантах осуществления ингибитор с-KIT и ингибитор MEK и/или ERK вводят практически одновременно или последовательно.

Способ может также включать введение другого средства таргетной противораковой терапии, биологического средства таргетной противораковой терапии, ингибитора контрольных точек иммунного ответа или химиотерапевтического средства.

Кроме того, две или более недель введения эффективного количества ингибитора с-KIT, и эффективного количества ингибитора митоген-активируемой протеинкиназы (ингибитора MEK), и/или эффективного количества ингибитора киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (ингибитора ERK), в соответствии с предполагаемым способом может привести к тому, что у пациента будет по меньшей мере частичная ремиссия.

Также предусмотрен способ лечения системного мастоцитоза у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту эффективного количества 1-[4-бром-5-[1-этил-7-(метиламино)-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил]-2-фторфенил]-3-фенилмочевины или ее фармацевтически приемлемой соли и эффективного количества ингибитора пути MAPKAP. В таком раскрытом способе ингибитор пути MAPKAP выбран из группы, состоящей из ингибитора киназы быстро прогрессирующей фибросаркомы (RAF), ингибитора митоген-активируемой протеинкиназы (ингибитора MEK) и ингибитора киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (ингибитора ERK).

В одном варианте осуществления системный мастоцитоз может характеризоваться мутацией с-KIT. Например, мутация может представлять собой мутацию с-KIT D816. В некоторых вариантах осуществления мутация представляет собой одну из D816V, D816Y, D816F, D816H, F522C, K509I, V560G, V559G и del419. В некоторых вариантах осуществления мутация представляет собой одну из A553D, C433Y, D419Y, D572A, D816F, D816H, D816I, D816V, D816Y, D820G, del419, dup(501-502), E839K, F522C, I817V, InsFF419, InsV815-I816, K509I, N822I, R815K, T417V, V560G, V559I или Y418Y. В некоторых вариантах осуществления мутация представляет собой D816V.

Кроме того, мастоцитоз может характеризоваться дополнительной мутацией с-KIT, которая представляет собой одну из мутаций Y269C, Y503\_F504insAY, V560D или K642E.

В таком раскрытом способе ингибитор MEK может быть выбран из группы, состоящей из траметиниба, селуметиниба, кобиметиниба и биниметиниба. В некоторых вариантах осуществления ингибитор MEK представляет собой биниметиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор MEK представляет собой траметиниб. Ингибитор ERK может быть выбран из группы, состоящей из уликсертиниба, SCH772984 и LY3214996.

Настоящее изобретение дополнительно предусматривает способ лечения мастоцитоза у пациента,

нуждающегося в этом, включающий введение пациенту эффективного количества ингибитора с-KIT и эффективного количества ингибитора RAF.

В таком раскрытом способе ингибитор RAF может представлять собой ингибитор всех изоформ RAF или B-RAF, включая вемурафениб, дабрафениб и LY3009120. Кроме того, ингибитор с-KIT может представлять собой 1-[4-бром-5-[1-этил-7-(метиламино)-2-оксо-1,2-дигидро-1,6-нафтиридин-3-ил]-2-фторфенил]-3-фенилмочевину или ее фармацевтически приемлемую соль.

В конкретных вариантах осуществления способов, раскрытых в данном документе, включая способы лечения мастоцитоза или мастоцитозной опухоли, способы включают индуцирование цитотического уничтожения тучных клеток, индуцирование апоптоза тучных клеток, снижение количества накопленных тучных клеток в ткани или органе, снижение тяжести симптомов мастоцитоза, ингибирование высвобождения медиатора тучных клеток, ингибирование роста тучных клеток и/или индуцирование регрессии мастоцитоза, где тучные клетки содержат одну или более активирующих мутаций в киназе с-KIT, таких как, например, активирующая мутация KIT D816V. В определенных вариантах осуществления способы охватывают способы устранения мастоцитоза, например мастоцитозной опухоли, у субъекта. В некоторых вариантах осуществления лечение приводит к полному ответу, частичному ответу, клиническому улучшению или стабильному заболеванию, определенному критерием FWG-MRT-ECNM (Gotlib et al., Blood, 2013, 121:2393-401).

В другом родственном варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает способы лечения или предупреждения острого миелоидного лейкоза (AML), необязательно с-KIT-опосредованного (AML), включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества ингибитора с-KIT в комбинации с эффективным количеством ингибитора пути MAPKAP, например траметиниба, кобиметиниба, селуметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120. В родственном варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает способы лечения или предупреждения острого миелоидного лейкоза (AML), необязательно с-KIT-опосредованного (AML), включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения А (или его фармацевтически приемлемой соли) или соединения В (или его фармацевтически приемлемой соли) в комбинации с эффективным количеством ингибитора пути MAPKAP, например траметиниба, кобиметиниба, селуметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120.

Если способы, описанные в данном документе, относятся к лечению соединением А или его фармацевтически приемлемой солью или соединением В или его фармацевтически приемлемой солью, то подразумевается, что требуется только одно из соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или соединения В или фармацевтически его приемлемой соли. Однако известно, что такие способы также охватывают введение пациенту как соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, так и соединения В или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с ингибитором пути MAPKAP. Способы, описанные в данном документе, также охватывают введение соединения А и ингибитора пути MAPKAP субъекту, при этом соединение А метаболизируется *in vivo* до соединения В, и смесь соединения А и соединения В обеспечивает эффективное лечение субъекта в комбинации с ингибитором пути MAPKAP *in vivo*.

Конкретные варианты осуществления раскрытых способов и композиций осуществляют на практике с применением

комбинации соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и траметиниба;  
комбинации соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и селуметиниба;  
комбинации соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и кобиметиниба; или  
комбинации соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и биниметиниба.

В одном варианте осуществления соединение А или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор MEK, например траметиниб или биниметиниб, вводят субъекту с с-KIT-опосредованным мастоцитозом. В другом варианте осуществления соединение В или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор MEK, например траметиниб или биниметиниб, вводят субъекту с с-KIT-опосредованным мастоцитозом.

В родственном варианте осуществления соединение А или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор MEK, например траметиниб или биниметиниб, вводят пациенту с мастоцитозной опухолью, включая без ограничения лейкоз из тучных клеток или саркому из тучных клеток, где рост мастоцитозной опухоли или прогрессирование опухоли обусловлены первичной активирующей мутацией с-KIT, например мутацией KIT D816V. В другом варианте осуществления соединение В или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор MEK, например траметиниб или биниметиниб, вводят пациенту с мастоцитозной опухолью, включая без ограничения лейкоз из тучных клеток или саркому из тучных клеток, где рост мастоцитозной опухоли или прогрессирование опухоли обусловлены первичной активирующей мутацией с-KIT, например мутацией KIT D816V. В определенных вариантах осуществления соединение А или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор MEK, например траметиниб или биниметиниб, вводят пациенту с AML, где AML необязательно обусловлен первичной активирующей мутацией с-KIT, например активирующей мутацией с-KIT в экзоне 8 или мутацией с-KIT в экзоне 17, включая без ограничения мутации в D816 или

в N822 (Journal of Clinical Oncology, 2006, 24:24, 3904-3911).

Конкретные варианты осуществления раскрытых способов и композиций осуществляют на практике с применением

- комбинации соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и уликсертиниба;
- комбинации соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и SCH772984;
- комбинации соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и LY3214996;
- комбинации соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и равоксертиниба; или
- комбинации соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и VX-11.

В одном варианте осуществления соединение А или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор ERK, например уликсертиниб, вводят субъекту с с-KIT-опосредованным мастоцитозом. В другом варианте осуществления соединение В или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор ERK, например уликсертиниб, вводят субъекту с с-KIT-опосредованным мастоцитозом.

В родственном варианте осуществления соединение А или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор ERK, например уликсертиниб, вводят пациенту с мастоцитозной опухолью, включая без ограничения лейкоз из тучных клеток или саркому из тучных клеток, где рост мастоцитозной опухоли или прогрессирование опухоли обусловлены первичной активирующей мутацией с-KIT, например мутацией KIT D816V. В другом варианте осуществления соединение В или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор ERK, например уликсертиниб, вводят пациенту с мастоцитозной опухолью, включая без ограничения лейкоз из тучных клеток или саркому из тучных клеток, где рост мастоцитозной опухоли или прогрессирование опухоли обусловлены первичной активирующей мутацией с-KIT, например мутацией KIT D816V. В определенных вариантах осуществления соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или соединение В или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор ERK, например уликсертиниб, вводят пациенту с AML, где AML необязательно обусловлен первичной активирующей мутацией с-KIT, например активирующей мутацией с-KIT в экзоне 8 или мутацией с-KIT в экзоне 17, включая без ограничения мутации в D816 или в N822 (Journal of Clinical Oncology, 2006, 24:24, 3904-3911).

Конкретные варианты осуществления раскрытых способов и композиций осуществляют на практике с применением

- комбинации соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и LY3009120;
- комбинации соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и дабрафениба; или
- комбинации соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и вемурафениба.

В одном варианте осуществления соединение А или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор RAF, например LY3009120, дабрафениб или вемурафениб, вводят субъекту с с-KIT-опосредованным мастоцитозом. В другом варианте осуществления соединение В или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор RAF, например LY3009120, дабрафениб или вемурафениб, вводят субъекту с с-KIT-опосредованным мастоцитозом.

В родственном варианте осуществления соединение А или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор RAF, например LY3009120, дабрафениб или вемурафениб, вводят пациенту с мастоцитозной опухолью, включая без ограничения лейкоз из тучных клеток или саркому из тучных клеток, где рост мастоцитозной опухоли или прогрессирование опухоли обусловлены первичной активирующей мутацией с-KIT, например мутацией KIT D816V. В другом варианте осуществления соединение В или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор RAF, например LY3009120, дабрафениб или вемурафениб, вводят пациенту с мастоцитозной опухолью, включая без ограничения лейкоз из тучных клеток или саркому из тучных клеток, где рост мастоцитозной опухоли или прогрессирование опухоли обусловлены первичной активирующей мутацией с-KIT, например мутацией KIT D816V. В определенных вариантах осуществления соединение А или его фармацевтически приемлемую соль или соединение В или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор RAF, например LY3009120, дабрафениб или вемурафениб, вводят пациенту с AML, где AML необязательно обусловлен первичной активирующей мутацией с-KIT, например активирующей мутацией с-KIT в экзоне 8 или мутацией с-KIT в экзоне 17, включая без ограничения мутации в D816 или в N822 (Journal of Clinical Oncology, 2006, 24:24, 3904-3911).

Иллюстративные ингибиторы с-KIT, которые можно применять в соответствии с раскрытыми способами и композициями, включают без ограничения соединения А или его фармацевтически приемлемую соль, соединения В или его фармацевтически приемлемую соль, мидостаурин, BLU-285, PLX9486 и креноланиб. Иллюстративные ингибиторы MEK, которые можно применять в соответствии с раскрытыми способами и композициями, включают без ограничения траметиниб, селуметиниб, кобиметиниб и биниметиниб. Иллюстративные ингибиторы ERK, которые можно применять в соответствии с раскрытыми способами и композициями, включают без ограничения уликсертиниб, SCH772984, LY3214996, равоксертиниб и VX-11e. Иллюстративные ингибиторы RAF, которые можно применять в соответствии с раскрытыми способами и композициями, включают без ограничения LY3009120, дабрафениб и вемурафениб.

Лечение соединением А или его фармацевтически приемлемой солью или соединением В или его фармацевтически приемлемой солью в комбинации с ингибитором пути MAPKAP, например траметини-

бом, биниметинибом, уликсертинибом или LY3009120, охватывает введение соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или соединения В или его фармацевтически приемлемой соли до, после, одновременно с введением ингибитора пути МАРКАР или в течение периода времени, перекрывающегося с введением ингибитора пути МАРКАР. Понятно, что эффективное количество любого из соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, соединения В или его фармацевтически приемлемой соли, другого ингибитора с-KIT или ингибитора пути МАРКАР, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120, может отличаться в случае применения в комбинациях, раскрытых в данном документе, по сравнению с тем случаем, когда любое из данных средств применяют само по себе для той же цели, например, для лечения или предупреждения мастоцитоза или опухоли тучных клеток, например лейкоза из тучных клеток или AML. В конкретных вариантах осуществления эффективное количество соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или соединения В или его фармацевтически приемлемой соли является более низким количеством в случае введения в виде комбинированной терапии с ингибитором пути МАРКАР, например траметинибом, биниметинибом, уликсертинибом или LY3009120, по сравнению с введением в виде монотерапии, например, для лечения или предупреждения мастоцитоза или опухоли тучных клеток. В конкретных вариантах осуществления эффективное количество ингибитора пути МАРКАР, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120, является более низким количеством при введении в составе комбинированной терапии с соединением А или его фармацевтически приемлемой солью или при введении в составе комбинированной терапии с соединением В или его фармацевтически приемлемой солью, например, для лечения или предупреждения мастоцитоза или опухоли тучных клеток.

Любой из способов, раскрытых в данном документе, может дополнительно включать определение того, содержат ли клетки мастоцитоза, опухоли тучных клеток или AML, лечение которых осуществляют, одну или более мутаций в гене с-KIT. Такое определение можно осуществлять посредством обычных способов определения наличия мутации в гене в биологическом образце, например в образце костного мозга, образце ткани, образце периферической крови или образце плазмы крови, полученном от субъекта. Кроме того, такое определение можно осуществлять посредством обзора результатов исследований, проведенных для определения наличия одной или более мутаций в гене с-KIT в биологическом образце, полученном от пациента. В определенных вариантах осуществления любого из способов, раскрытых в данном документе, способы осуществляют на субъектах, у которых мастоцитоз, опухоль тучных клеток или AML были идентифицированы как содержащие одну или более мутаций в гене с-KIT. Мутации в гене с-KIT включают без ограничения любую из конкретно описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления любого из способов, раскрытых в данном документе, способы не осуществляют на субъектах, у которых мастоцитоз, опухоль тучных клеток или AML были идентифицированы как не содержащие одну или более мутаций в гене с-KIT.

В различных аспектах любого из способов, раскрытых в данном документе, лечение либо соединением А или его фармацевтически приемлемой солью, либо соединением В или его фармацевтически приемлемой солью в комбинации с ингибитором пути МАРКАР, например траметинибом, биниметинибом, уликсертинибом или LY3009120, индуцирует цитотоксическое уничтожение тучных клеток, индуцирует апоптоз тучных клеток, обеспечивает снижение количества накопленных тучных клеток в ткани или органе, обеспечивает снижение тяжести симптомов мастоцитоза, обеспечивает ингибирование высвобождения медиатора тучных клеток, обеспечивает ингибирование роста тучных клеток и/или индуцирует регрессию мастоцитоза, где тучные клетки содержат активирующие мутации в киназе с-KIT, включая активирующую мутацию KIT D816V. Способы измерения или определения количественных показателей апоптоза тучных клеток, уничтожения тучных клеток, ингибирования роста тучных клеток и пролиферации, ингибирования высвобождения медиатора тучных клеток, аллельной нагрузки мутантным KIT в периферической крови, устранения мастоцитоза и мастоцитозных опухолей, полного ответа, частичного ответа, клинического улучшения или стабильного заболевания известны из уровня техники и включают любые способы, описанные в данном документе.

В конкретных вариантах осуществления лечение комбинацией ингибитора с-KIT, например, соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или соединения В или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора пути МАРКАР, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120, приводит к повышению количественного показателя апоптоза клеток мастоцитоза или тучных клеток по сравнению с количественным показателем апоптоза либо необработанных, либо обработанных только ингибитором пути МАРКАР или только ингибитором с-KIT, например соединением А или соединением В, клеток мастоцитоза или тучных клеток того же типа. Например, показатель апоптоза может повышаться на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, в по меньшей мере два раза, по меньшей мере три раза, по меньшей мере четыре раза, по меньшей мере пять раз, по меньшей мере 10 раз или по меньшей мере 20 раз. В определенных вариантах осуществления количественные показатели апоптоза определяли путем измерения активности каспазы у мутантных по KIT тучных клеток или линий тучных клеток, включая линию тучных клеток HMC1.2, содержащую мутацию KIT D816V.

В конкретных вариантах осуществления лечение комбинацией ингибитора с-KIT, например соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или соединения В или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора пути MAPKAP, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120, приводит к снижению накопления тучных клеток в коже или внутреннем органе, например печени, селезенке, костном мозге и/или тонком кишечнике, по сравнению с количественным показателем накопления тучных клеток в том же либо необработанном или обработанном только ингибитором пути MAPKAP, например траметинибом, биниметинибом, уликсертинибом или LY3009120, или только ингибитором с-KIT, например мидостаурином, BLU-285, соединением А или соединением В, органе. Например, количество или число тучных клеток, накопившихся в органе, может снижаться на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80% или по меньшей мере 90%.

В конкретных вариантах осуществления лечение комбинацией ингибитора с-KIT, например соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или соединения В или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора пути MAPKAP, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120, приводит к полному ответу, как определено как определено критерием IWG-MRT-ECNM (Gotlib et al., Blood, 2013, 121:2393-401).

В конкретных вариантах осуществления лечение комбинацией ингибитора с-KIT, например соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или соединения В или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора пути MAPKAP, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120, приводит к частичному ответу, как определено как определено критерием IWG-MRT-ECNM (Gotlib et al., Blood, 2013, 121:2393-401).

В конкретных вариантах осуществления лечение комбинацией ингибитора с-KIT, например соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или соединения В или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора пути MAPKAP, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120, приводит к клиническому улучшению, как определено как определено критерием IWG-MRT-ECNM (Gotlib et al., Blood, 2013, 121:2393-401).

В конкретных вариантах осуществления лечение комбинацией ингибитора с-KIT, например соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или соединения В или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора пути MAPKAP, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120, приводит к стабильному заболеванию, как определено как определено критерием IWG-MRT-ECNM (Gotlib et al., Blood, 2013, 121:2393-401).

В конкретных вариантах осуществления лечение комбинацией ингибитора с-KIT, например соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или соединения В или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора пути MAPKAP, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120, индуцирует апоптоз или ингибирование роста устойчивых клеток мастоцитоза, содержащих вторичную мутацию KIT в дополнение к первичной мутации KIT D816V, где вторичная мутация KIT включает без ограничения точечную мутацию Y269C, Y503\_F504insAY, V560D или K642E, делецию или вставку внутри рамки считывания или миссенс-мутацию в гене с-KIT (Lasho et al., Br. J. Haematol., 173, 153-156).

В конкретных вариантах осуществления лечение комбинацией ингибитора с-KIT, например соединения А или его фармацевтически приемлемой соли или соединения В или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора пути MAPKAP, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120, индуцирует апоптоз или ингибирование роста устойчивых клеток мастоцитоза, содержащих мутации, например мутации, обеспечивающие устойчивость, в других генах, включая любые из раскрытых в данном документе. В определенных вариантах осуществления такие мутации в других генах могут включать мутации с приобретением функции NRas (Haematologica, 2011, 96(03):459-463, DOI: 10.3324/haematol.2010.031690) или мутации с потерей функции TET2 (Leukemia, 2009, 23:900-04; Blood, 6 December 2012, 120(24):4846-49). Было выявлено наличие других мутаций эпигенетических или транскрипционных регуляторов в SM, включая мутации DNMT3A, ASXL1 и CBL у 12, 12 и 4% пациентов соответственно (PloS one. 2012, 7:e43090). Кроме того, у некоторых пациентов с мастоцитозом также присутствуют мутации в механизме работы сплайсосомы. Сплайсосомы обеспечивают правильный линейный порядок экзонов, сплайсируемых на mRNA. Hanssens et al. сообщали о частоте возникновения мутаций в группе из 72 пациентов с мастоцитозом, составляющей 23,6% для SRSF2, 5,6% для SF3B1 и 2,7% для U2AF1 (Haematologica, 2014, 99:830-35). Лечение, раскрытое в данном документе, комбинацией ингибитора с-KIT и ингибитора MEK по сравнению с отсутствием лечения или лечением только ингибитором MEK, например траметинибом, или только ингибитором с-KIT, например соединением А или соединением В, может оказать благоприятное воздействие на такой мастоцитоз, характеризующийся сложными геномными инициаторами. Например, показатель апоптоза может повышаться на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, в по меньшей мере два раза, по меньшей мере три раза, по меньшей мере четыре раза, по меньшей мере пять раз, по меньшей мере 10 раз или по меньшей мере 20 раз. Например, количественный показатель роста или чис-

ло устойчивых клеток мастоцитоза может ограничиваться на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80% или по меньшей мере 90%.

В конкретных вариантах осуществления устойчивые клетки мастоцитоза являются устойчивыми к опосредованной апоптозом гибели клеток или цитотоксической активности посредством лечения ингибитором с-KIT, например соединением А, соединением В, мидостаурином, BLU-285, PLX9486 или креноланибом, и/или являются устойчивыми к опосредованной апоптозом гибели клеток или цитотоксической активности посредством лечения ингибитором пути MAPKAP, например траметинибом, биниметинибом, уликсертинибом или LY3009120, при применении в виде средств для монотерапии.

В конкретных вариантах осуществления лечение комбинацией ингибитора с-KIT, например либо соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, либо соединения В или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с ингибитором пути MAPKAP, например траметинибом, биниметинибом, уликсертинибом или LY3009120, приводит к устранению мастоцитоза, например мастоцитозной опухоли. В конкретных вариантах осуществления устранение мастоцитоза означает, что у пациента больше не будет выявляемого мастоцитоза. В конкретных вариантах осуществления у пациента больше не будет выявляемого мастоцитоза в течение по меньшей мере двенадцати недель, по меньшей мере двадцати четырех недель, по меньшей мере одного года, по меньшей мере двух лет или по меньшей мере 5 лет после начала лечения мастоцитоза комбинированной терапией, раскрытой в данном документе. Устранение мастоцитоза можно определить посредством критерия полного ответа, как определено критерием IWG-MRT-ECNM (Gotlib et al., Blood, 2013, 121:2393-401).

В настоящем изобретении описаны виды комбинированной терапии, которые предусматривают введение ингибитора с-KIT, например либо соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, либо соединения В или его фармацевтически приемлемой соли и ингибитора пути MAPKAP, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120. Виды комбинированной терапии, описанные в данном документе, можно применять сами по себе или в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими средствами. Например, либо соединение А или его фармацевтически приемлемую соль, либо соединение В или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор пути MAPKAP можно вводить вместе с терапевтическим средством таргетной противораковой терапии, биологическим средством таргетной противораковой терапии, ингибитором контрольных точек иммунного ответа или химиотерапевтическим средством. В другом варианте осуществления соединение А или соединение В и ингибитор пути MAPKAP, например траметиниб, биниметиниб, уликсертиниб или LY3009120, вводят без какого-либо другого терапевтического средства. Терапевтические средства можно вводить последовательно или вместе с другим терапевтическим средством, описанным в данном документе, в составе комбинированной терапии.

Получения комбинированной терапии можно достичь путем введения двух или более терапевтических средств, каждое из которых составляют и вводят по отдельности, или путем введения двух или более терапевтических средств в одном составе. Другие комбинации также охватываются комбинированной терапией. Хотя два или более средств в составе комбинированной терапии можно вводить одновременно, это не является обязательным. Например, введение первого средства (или комбинации средств) может происходить раньше введения второго средства (или комбинации средств) на минуты, часы, дни или недели. Таким образом, два или более средств можно вводить с интервалом, составляющим несколько минут между введениями, или с интервалом, составляющим 1, 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18 или 24 ч между введениями, или с интервалом, составляющим 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14 дней между введениями, или с интервалом, составляющим 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 недель между введениями. В некоторых случаях возможны даже более длительные интервалы. Хотя во многих случаях требуется, чтобы два или более средств, применяемых в составе комбинированной терапии, присутствовали в организме пациента в одно и то же время, это не обязательно.

Комбинированная терапия также может включать два или более введений одного или более средств, применяемых в комбинации, с применением отличающейся последовательности средств, представляющих собой компоненты. Например, если средство X и средство Y применяют в комбинации, то их можно вводить последовательно в любой комбинации один или более раз, например, в таком порядке X-Y-X, X-X-Y, Y-X-Y, Y-Y-X, X-X-Y-Y и т.д. Кроме того, введение двух или более средств комбинации может происходить до или после окончания интервалов между введениями дозы, во время которых по меньшей мере одно из средств комбинации исключали из лечения.

Дополнительные терапевтические средства, которые можно вводить в соответствии с настоящим изобретением, например, для лечения мастоцитоза или мастоцитозной опухоли, включают без ограничения средства, выбранные из группы, состоящей из

ингибиторов STAT5, включая без ограничения руксолитиниб, тофацитиниб или федратиниб;  
ингибиторов ВТК, включая без ограничения ибрутиниб, PCI 29732, акалабрутиниб или AVL-292;  
ингибиторов киназы PI3, включая без ограничения идеалалисиб, дактолисиб, пиктилисиб, LY294002, бупарлисиб, пиларалисиб, дувелисиб, PF-04691502, воксталисиб, омипалисиб, гедатолисиб, апитолисиб или вортманнин;



ингибиторов киназы АКТ, включая без ограничения МК-2206, перифосин, GSK690693, GSK2141795, ипатасертиб, AZD5363, афуресертиб или АТ7867;

ингибиторов метилирования ДНК, включая без ограничения 5-азациитидин или 5-аза-2'-дезоксцитидин;

протеосомальных ингибиторов, включая без ограничения бортезомиб, карфилзомиб, MLN9708, ONX 0912;

интерферона-альфа (IFN- $\alpha$ );

кладрибина и лизосомотропных средства, включая без ограничения хлорохин, гидроксихлорохин или хинокрин.

В определенных вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство выбрано из 5-азациитидина, 5-аза-2'-дезоксцитидина и кладрибина.

В конкретных вариантах осуществления лечение субъекта, нуждающегося в этом, осуществляют комбинацией соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, одного или двух из ингибитора пути МАРКАР, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120, и 5-азациитидина. В определенных вариантах осуществления ингибитор пути МАРКАР представляет собой траметиниб. В определенных вариантах осуществления ингибитор пути МАРКАР представляет собой биниметиниб. В определенных вариантах осуществления ингибитор пути МАРКАР представляет собой уликсертиниб. В определенных вариантах осуществления ингибитор пути МАРКАР представляет собой LY3009120, дабрафениб или вемурафениб.

В конкретных вариантах осуществления лечение субъекта, нуждающегося в этом, осуществляют комбинацией соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, ингибитора пути МАРКАР, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120, и 5-аза-2'-дезоксцитидина. В определенных вариантах осуществления ингибитор пути МАРКАР представляет собой траметиниб. В определенных вариантах осуществления ингибитор пути МАРКАР представляет собой биниметиниб. В определенных вариантах осуществления ингибитор пути МАРКАР представляет собой уликсертиниб. В определенных вариантах осуществления ингибитор пути МАРКАР представляет собой LY3009120, дабрафениб или вемурафениб.

В конкретных вариантах осуществления лечение субъекта, нуждающегося в этом, осуществляют комбинацией соединения А или его фармацевтически приемлемой соли, ингибитора пути МАРКАР, например траметиниба, биниметиниба, уликсертиниба или LY3009120, и кладрибина. В определенных вариантах осуществления ингибитор пути МАРКАР представляет собой траметиниб. В определенных вариантах осуществления ингибитор пути МАРКАР представляет собой биниметиниб. В определенных вариантах осуществления ингибитор пути МАРКАР представляет собой уликсертиниб. В определенных вариантах осуществления ингибитор пути МАРКАР представляет собой LY3009120, дабрафениб или вемурафениб. Дополнительные терапевтические средства, которые можно вводить в соответствии с настоящим изобретением, включают без ограничения триоксид мышьяка, циклофосфамид, цитарабин, даунорубицин, доксорубицин, энаседениб, идарубицин, квизартиниб, митоксантрон, тиогуанин или винкристин. В конкретных вариантах осуществления лечение субъекта, у которого имеется АML, осуществляют комбинацией соединения А или его фармацевтически приемлемой соли и триоксида мышьяка, циклофосфамида, цитарабина, даунорубицина, доксорубицина, энаседениба, идарубицина, квизартиниба, митоксантрона, тиогуанина или винкристина.

Фармацевтические композиции.

Аспекты настоящего изобретения направлены на способы лечения, включающие введение комбинации соединений, раскрытых в данном документе, или одной или более фармацевтических композиций, содержащих такие соединения и фармацевтически приемлемый разбавитель, вспомогательное вещество или носитель. В конкретных вариантах осуществления способы, раскрытые в данном документе, включают введение первой фармацевтической композиции, содержащей ингибитор с-KIT, например соединение А или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый разбавитель, вспомогательное вещество или носитель, и второй фармацевтической композиции, содержащей ингибитор пути МАРКАР, например траметиниб, биниметиниб, уликсертиниб или LY3009120, и фармацевтически приемлемый разбавитель, вспомогательное вещество или носитель. В конкретных вариантах осуществления способы, раскрытые в данном документе, включают введение первой фармацевтической композиции, содержащей соединение В или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый разбавитель, вспомогательное вещество или носитель, и второй фармацевтической композиции, содержащей ингибитор пути МАРКАР, например траметиниб, биниметиниб, уликсертиниб или LY3009120, и фармацевтически приемлемый разбавитель, вспомогательное вещество или носитель. В конкретных вариантах осуществления способы, раскрытые в данном документе, включают введение фармацевтической композиции, содержащей ингибитор с-KIT, например соединение А или его фармацевтически приемлемую соль, ингибитор пути МАРКАР, например траметиниб, биниметиниб, уликсертиниб или LY3009120, и фармацевтически приемлемый разбавитель, вспомогательное вещество или носитель. В конкретных вариантах осуществления способы, раскрытые в данном документе, включают введение фармацевтической композиции, содержащей соединение В или его фармацевтически приемлемую соль,

ингибитор пути МАРКАР, например траметиниб, биниметиниб, уликсертиниб или LY3009120, и фармацевтически приемлемый разбавитель, вспомогательное вещество или носитель.

При применении фармацевтических композиций на основе соединений, описанных в данном документе, фармацевтически приемлемые носители могут быть либо твердыми, либо жидкими. Твердые формы включают порошки, таблетки, диспергируемые гранулы, капсулы, крахмальные капсулы и суппозитории. Порошки и таблетки могут содержать от приблизительно 5% до приблизительно 95% активного ингредиента. Подходящие твердые носители известны из уровня техники, например карбонат магния, стеарат магния, тальк, сахар или лактоза. Таблетки, порошки, крахмальные капсулы и капсулы можно использовать в виде твердых лекарственных форм, подходящих для перорального введения. Примеры фармацевтически приемлемых носителей и способов изготовления различных композиций можно найти в A. Gennaro (ed.), Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, (1990), Mack Publishing Co., Easton, Pa, который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Препараты в жидкой форме включают растворы, суспензии и эмульсии. Например, водные растворы или растворы на основе воды и пропиленгликоля для парентеральной инъекции или добавления подсластителей и замутнителей для пероральных растворов, суспензий и эмульсий. Препараты в жидкой форме могут также включать растворы для интраназального введения.

Жидкие, в частности инъекционные, композиции можно, например, получать путем растворения, диспергирования и т.д. Например, раскрытое соединение является смешанным с фармацевтически приемлемым растворителем или растворенным в нем, таком как, например, вода, солевой раствор, водный раствор декстрозы, глицерин, этанол и т.п., образуя тем самым инъекционный изотонический раствор или суспензию.

Белки, такие как альбумин, частицы хиломикрона или сывороточные белки, можно применять для солюбилизации раскрытых соединений.

Парентеральное введение с помощью инъекции, как правило, применяют для подкожных, внутримышечных или внутривенных инъекций и инфузий. Инъекционные препараты можно получать в традиционных формах, либо в виде жидких растворов или суспензий, либо твердых форм, подходящих для растворения в жидкости перед инъекцией.

Также можно применять аэрозольные препараты, подходящие для ингаляции. Данные препараты могут включать растворы и твердые вещества в форме порошка, которые могут быть в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем, таким как инертный сжатый газ, например азот.

Также предполагается применение препаратов в твердой форме, которые предназначены для превращения незадолго до применения в препараты в жидкой форме либо для перорального, либо для парентерального введения. Такие жидкие формы включают растворы, суспензии и эмульсии.

#### Дозировка.

В некоторых вариантах осуществления, где соединение А или соединение В (или их фармацевтически приемлемые соли) применяют в комбинации с ингибитором пути МАРКАР, например траметинибом, биниметинибом, уликсертинибом или LY3009120, для протокола лечения, при этом два терапевтических средства можно вводить вместе или в "двойном режиме", где два терапевтических средства дозируют и вводят по отдельности. Если соединение А или В (или их фармацевтически приемлемые соли) и ингибитор пути МАРКАР дозируют по отдельности, то обычная дозировка соединения А или соединения В (или их фармацевтически приемлемых солей), вводимая субъекту, нуждающемуся в лечении, составляет, как правило, от приблизительно 5 мг в сутки до приблизительно 5000 мг в сутки и в других вариантах осуществления от приблизительно 50 мг в сутки до приблизительно 1000 мг в сутки. Другие дозировки могут составлять от приблизительно 10 ммоль до приблизительно 250 ммоль в сутки, от приблизительно 20 ммоль до приблизительно 70 ммоль в сутки или даже от приблизительно 30 ммоль до приблизительно 60 ммоль в сутки. Количества, представляющие собой эффективную дозировку, раскрытых соединений, если их применяют для обеспечения указанных эффектов, находятся в диапазоне от приблизительно 0,5 мг до приблизительно 5000 мг раскрытого соединения, как необходимо для лечения состояния. Композиции для применения *in vivo* или *in vitro* могут содержать приблизительно 0,5, 5, 20, 50, 75, 100, 150, 250, 500, 750, 1000, 1250, 2500, 3500 или 5000 мг раскрытого соединения или количество в диапазоне от одного количества до другого количества в перечне доз. Обычная рекомендованная суточная дозировка для режима перорального введения может находиться в диапазоне от приблизительно 1 мг/сутки до приблизительно 500 мг/сутки или от 1 до 200 мг/сутки в однократной дозе или в от двух до четырех разделенных доз. В одном варианте осуществления обычная суточная доза для режима перорального введения составляет 150 мг.

В определенных вариантах осуществления дозировка ингибиторов пути МАРКАР соответствует ранее раскрытым дозировкам и/или дозировкам, одобренным для применения Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств. В других вариантах осуществления дозировка ингибитора пути МАРКАР составляет менее ранее одобренных дозировок, например приблизительно 20%, приблизительно 50% или приблизительно 80% одобренной дозировки. В определенных вариантах осуществления дозировка траметиниба составляет от приблизительно 5 до 20 мг в сутки перорально, например приблизительно 1 мг в сутки или приблизительно 2 мг в сутки. В определенных вариантах осу-

шествления дозировка кобиметиниба составляет от приблизительно 10 до 200 мг в сутки, например приблизительно 30 мг или приблизительно 60 мг в сутки. В определенных вариантах осуществления дозировка биниметиниба составляет от приблизительно 10 мг до приблизительно 200 мг два раза в сутки, например, приблизительно 25 мг или приблизительно 45 мг два раза в сутки. В определенных вариантах осуществления дозировка селуметиниба составляет от приблизительно 10 мг до приблизительно 200 мг в сутки, или приблизительно 30 мг, или приблизительно 75 мг два раза в сутки.

Количество и частота введения соединений, описанных в данном документе, и/или их фармацевтически приемлемых солей, и других терапевтических средств будут регулироваться в соответствии с решением лечащего врача, учитывая такие факторы, как возраст, состояние и вес пациента, а также тяжесть симптомов, лечение которых осуществляют.

Соединения по настоящему изобретению (например, соединение А или соединение В (и их фармацевтически приемлемые соли), ингибиторы пути МАРКАР и другие терапевтические средства) можно вводить любым подходящим способом. Соединения можно вводить перорально (например, с пищей) в капсулах, суспензиях, таблетках, пилюлях, драже, жидкостях, гелях, сиропах, взвесьях и т.п. Способы инкапсулирования композиций (такие как покрытие твердым желатином или циклодекстраном) известны из уровня техники (Baker et al., "Controlled Release of Biological Active Agents", John Wiley and Sons, 1986, который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте). Соединения можно вводить субъекту в сочетании с приемлемым фармацевтическим носителем в качестве части фармацевтической композиции. Состав фармацевтической композиции будет варьировать в соответствии с выбранным способом введения. Подходящие фармацевтические носители могут содержать инертные ингредиенты, которые не взаимодействуют с соединением. Носители являются биологически совместимыми, т.е. нетоксичными, невызывающими воспаление, неиммуногенными и не имеют других нежелательных реакций в месте введения.

Иллюстративные фармацевтические композиции представляют собой таблетки и желатиновые капсулы, содержащие соединение, описанное в данном документе, например, соединение А или его фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемый носитель, такой как

а) разбавитель, например очищенная вода, триглицеридные масла, такие как гидрогенизированное или частично гидрогенизированное растительное масло или их смеси, кукурузное масло, оливковое масло, масло подсолнечника, сафлоровое масло, рыбий жир, такой как ЕРА или ДНА или их сложные эфиры или триглицериды или их смеси, омега-3 жирные кислоты или их производные, лактоза, декстроза, сахароза, маннит, сорбит, целлюлоза, натрий, сахарин, глюкоза и/или глицин;

б) смазывающее вещество, например кремний, тальк, стеариновая кислота, ее магниевая или кальциевая соль, олеат натрия, стеарат натрия, стеарат магния, бензоат натрия, ацетат натрия, хлорид натрия и/или полиэтиленгликоль; также для таблеток;

в) связующее вещество, например алюмосиликат магния, крахмальный клейстер, желатин, трагакант, метилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза натрия, карбонат магния, природные сахара, такие как глюкоза или бета-лактоза, сахаристое вещество из кукурузы, природные и синтетический смолы, такие как аравийская камедь, трагакант или альгинат натрия, воски и/или поливинилпирролидон при необходимости;

д) разрыхлитель, например виды крахмала, агар, метилцеллюлоза, бентонит, ксантановая камедь, альгиновая кислота или ее натриевая соль или шипучие смеси;

е) абсорбирующее вещество, красящее вещество, ароматизатор и подсластитель;

ф) эмульгатор или диспергирующее средство, такое как Tween 80, лабразол, НРМС, DOSS, капроил 909, лабрафак, лабрафил, пецеол, транскутол, капмул МСМ, капмул РG-12, каптекс 355, гелюцир, витамин Е TGPS или другой приемлемый эмульгатор; и/или

г) средство, которое усиливает абсорбцию соединения, такое как циклодекстрин, гидроксипропилциклодекстрин, PEG400, PEG200.

При составлении в виде фиксированной дозы в таких комбинированных продуктах применяют соединения, описанные в данном документе, в диапазоне дозировок, описанном в данном документе или известном специалистам в данной области техники.

Поскольку соединения, описанные в данном документе (например, соединения А и В и ингибиторы пути МАРКАР) предназначены для применения в фармацевтических композициях, специалистам в данной области техники будет понятно, что их можно получить в практически чистых формах, например, на по меньшей мере 60% чистых, на по меньшей мере 75% чистых, на по меньшей мере 85% чистых и на по меньшей мере 98% чистых (вес/вес). Фармацевтический препарат может находиться в стандартной лекарственной форме. В такой форме препарат разделяют на однократные дозы подходящего размера, содержащие подходящие количества соединений А или В, например эффективное количество для достижения необходимой цели, описанной в данном документе.

#### Примеры

Было обнаружено, что обработка с помощью комбинации либо соединения А, либо его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с ингибитором пути МАРКАР неожиданно и синергетически индуцирует апоптоз мутантных с-KIT-контролируемых тучных клеток, являющихся причиной системно-

го мастоцитоза. Кроме того, данная комбинированная терапия обеспечивает ингибирование пролиферации клеток мастоцитоза. Кроме того, оказалось, что комбинированная терапия, раскрытая в данном документе, оказывает цитотоксическое действие на мастоцитоз, в отличие от лишь цитостатического эффекта, что определяли посредством активации каспазы, индуцированной комбинированной обработкой. Описание данного неожиданного открытия предпринималось в биохимических анализах и клеточных анализах, включая описанные в данном документе.

Таким образом настоящее изобретение дополнительно проиллюстрировано следующими примерами, которые не следует истолковывать как ограничивающие настоящее изобретение в объеме или сущности конкретных процедур, описанных в данном документе. Следует понимать, что примеры приведены для иллюстрации определенных вариантов осуществления и что тем самым не подразумевается ограничение объема настоящего изобретения. Следует также понимать, что можно прибегнуть к различным другим вариантам осуществления, модификациям и его эквивалентам, которые могут быть предложены специалистами в данной области техники без отступления от сущности настоящего изобретения и/или объема прилагаемой формулы изобретения.

Пример 1. Обработка линий тучных клеток, мутантных по КИТ, соединением А или соединением В обеспечивает ингибирование пролиферации клеток и фосфорилирование КИТ линий клеток мастоцитоза.

Проводили исследование, в котором продемонстрировано, что обработка соединением А или соединением В обеспечивает ингибирование пролиферации клеток мутантных по КИТ линий тучных клеток, представляющих собой НМС1.1 КИТ V560G и НМС1.2 КИТ V560G/D816V. Анализы проводили в 96-луночных планшетах с посевом 10000 клеток на лунку. Клетки обрабатывали контролем со средой-носителем, соединением А или соединением В в различных концентрациях, обеспечивали рост в течение 72 ч и затем оценивали пролиферацию клеток.

На фиг. 1А представлено графическое представление, на котором продемонстрирована относительная доля в процентах пролиферации клеток, определенная для различных концентраций соединения А. Обработка соединением А обеспечивала ингибирование повышения пролиферации клеток в линиях клеток тучных клеток НМС1.1 V560G и НМС1.2 V560G/D816V со значениями IC<sub>50</sub>, составляющими 2,6 и 97 нМ соответственно.

На фиг. 1В представлено графическое представление, на котором продемонстрирована относительная доля в процентах пролиферации клеток, определенная для различных концентраций соединения В. Обработка соединением В обеспечивала ингибирование повышения пролиферации клеток в линиях клеток НМС1.1 V560G и НМС1.2 V560G/D816V со значениями IC<sub>50</sub>, составляющими 2,3 и 61 нМ соответственно.

Пример 2. Комбинированная обработка соединением А и траметинибом обеспечивает индуцирование апоптоза в линиях клеток мастоцитоза.

Проводили исследование для демонстрации того, что комбинированная обработка соединением А и траметинибом, представляющим собой ингибитор МЕК, обеспечивала индуцирование апоптоза в линиях клеток мастоцитоза V560G/D816V НМС1.2. Анализы проводили в 96-луночных планшетах с посевом 10000 клеток на лунку. Клетки обрабатывали контролем со средой-носителем, соединением А, траметинибом или их комбинациями в различных концентрациях и обеспечивали рост клеток в течение 24 ч. Апоптоз оценивали посредством измерения активности каспазы 3/7.

На фиг. 2А представлено графическое представление, на котором продемонстрирована относительная доля в процентах апоптоза клеток, определенного для различных видов обработки. На фиг. 2В представлена таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности (CI), описанного Chou и Talalay (1984), и компьютерного программного обеспечения Chou и Martin (2005). CI<1 указывает на синергизм, CI=1 указывает на аддитивный эффект, и CI>1 указывает на антагонизм. Виды комбинированной обработки соединением А и траметинибом, представляющим собой ингибитор МЕК, неожиданно показали сильный синергизм в отношении индуцирования апоптоза клеток НМС1.2 КИТ V560G/D816V. На фиг. 2С представлен график, построенный на основе показателя аддитивности CI, демонстрирующий сильный синергизм для комбинации соединения А с траметинибом в отношении индуцирования апоптоза тучных клеток НМС1.2 КИТ V560G/D816V.

Пример 3. Комбинированная обработка соединением В и траметинибом обеспечивала индуцирование апоптоза в линиях клеток мастоцитоза.

Также проводили исследование для демонстрации того, что комбинированная обработка соединением В и траметинибом обеспечивала индуцирование апоптоза в линии клеток мастоцитоза V560G/D816V НМС1.2. Анализы проводили как объясняется в примере 2. Апоптоз оценивали посредством измерения активности каспазы 3/7.

На фиг. 3А представлено графическое представление, на котором продемонстрирована относительная доля в процентах апоптоза клеток, определенного для различных видов обработки. На фиг. 3В представлена таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности (CI), описанного Chou и Talalay (1984), и компьютерного программного обеспечения Chou и Martin (2005). CI<1 указывает на си-

нергизм,  $CI=1$  указывает на аддитивный эффект, и  $CI>1$  указывает на антагонизм. Виды комбинированной обработки соединением В и траметинибом, представляющим собой ингибитор МЕК, неожиданно показали сильный синергизм в отношении индуцирования апоптоза клеток НМС1.2 КИТ V560G/D816V. На фиг. 3С представлен график, построенный на основе показателя аддитивности  $CI$ , демонстрирующий сильный синергизм для комбинации соединения В с траметинибом в отношении индуцирования апоптоза тучных клеток НМС1.2 КИТ V560G/D816V.

Пример 4. Комбинированная обработка соединением А и биниметинибом обеспечивает индуцирование апоптоза в линиях клеток мастоцитоза.

Комбинированная обработка соединением А и биниметинибом также обеспечивает индуцирование апоптоза в линиях клеток мастоцитоза НМС1.2 КИТ V560G/D816V. Анализы проводили как объясняется в примере 2. Апоптоз оценивали посредством измерения активности каспазы 3/7.

На фиг. 4А представлено графическое представление, на котором продемонстрирована относительная доля в процентах апоптоза клеток, определенного для различных видов обработки. На фиг. 4В представлена таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности ( $CI$ ), описанного Chou и Talalay (1984), и компьютерного программного обеспечения Chou и Martin (2005). Виды комбинированной обработки соединением А и биниметинибом, представляющим собой ингибитор МЕК, неожиданно показали сильный синергизм в отношении индуцирования апоптоза клеток НМС1.2 КИТ V560G/D816V. На фиг. 4С представлен график, построенный на основе показателя аддитивности  $CI$ , демонстрирующий сильный синергизм для комбинации соединения А с биниметинибом в отношении индуцирования апоптоза тучных клеток НМС1.2 КИТ V560G/D816V.

Пример 5. Комбинированная обработка соединением В и биниметинибом обеспечивает индуцирование апоптоза в линиях клеток мастоцитоза.

На фиг. 5А представлено графическое представление, на котором продемонстрирована относительная доля в процентах апоптоза клеток, определенного для различных видов обработки соединением В и биниметинибом. На фиг. 5В представлена таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности ( $CI$ ), описанного Chou и Talalay (1984), и компьютерного программного обеспечения Chou и Martin (2005).  $CI<1$  указывает на синергизм,  $CI=1$  указывает на аддитивный эффект, и  $CI>1$  указывает на антагонизм. Виды комбинированной обработки соединением В и биниметинибом, представляющим собой ингибитор МЕК, неожиданно показали сильный синергизм в отношении индуцирования апоптоза клеток НМС1.2 КИТ V560G/D816V. На фиг. 5С представлен график, построенный на основе показателя аддитивности  $CI$ , демонстрирующий сильный синергизм для комбинации соединения В с биниметинибом в отношении индуцирования апоптоза тучных клеток НМС1.2 КИТ V560G/D816V.

Пример 6. Комбинированная обработка соединением А и кобиметинибом обеспечивает индуцирование апоптоза в линиях клеток мастоцитоза.

На фиг. 6А представлено графическое представление, на котором продемонстрирована относительная доля в процентах апоптоза клеток, определенного для различных видов обработки соединением А и кобиметинибом. На фиг. 6В представлена таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности ( $CI$ ), описанного Chou и Talalay (1984), и компьютерного программного обеспечения Chou и Martin (2005). Виды комбинированной обработки соединением А и кобиметинибом, представляющим собой ингибитор МЕК, неожиданно показали сильный синергизм в индуцировании апоптоза клеток НМС1.2 КИТ V560G/D816V. На фиг. 6С представлен график, построенный на основе показателя аддитивности  $CI$ , демонстрирующий сильный синергизм для комбинации соединения А с кобиметинибом в отношении индуцирования апоптоза тучных клеток НМС1.2 КИТ V560G/D816V.

Пример 7. Комбинированная обработка соединением В и кобиметинибом обеспечивает индуцирование апоптоза в линиях клеток мастоцитоза.

На фиг. 7А представлено графическое представление, на котором продемонстрирована относительная доля в процентах апоптоза клеток, определенного для различных видов обработки соединением В и кобиметинибом. На фиг. 7В представлена таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности ( $CI$ ), описанного Chou и Talalay (1984), и компьютерного программного обеспечения Chou и Martin (2005).  $CI<1$  указывает на синергизм,  $CI=1$  указывает на аддитивный эффект, и  $CI>1$  указывает на антагонизм. Виды комбинированной обработки соединением В и кобиметинибом, представляющим собой ингибитор МЕК, неожиданно показали сильный синергизм в отношении индуцирования апоптоза клеток НМС1.2 КИТ V560G/D816V. На фиг. 7С представлен график, построенный на основе показателя аддитивности  $CI$ , демонстрирующий сильный синергизм для комбинации соединения В с кобиметинибом в отношении индуцирования апоптоза тучных клеток НМС1.2 КИТ V560G/D816V.

Пример 8. Комбинированная обработка соединением А и уликсертинибом обеспечивает индуцирование апоптоза в линиях клеток мастоцитоза.

На фиг. 8А представлено графическое представление, на котором продемонстрирована относитель-

ная доля в процентах апоптоза клеток, определенного для различных видов обработки соединением А и уликсертинибом, представляющим собой ингибитор ERK. На фиг. 8В представлена таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности (CI), описанного Chou и Talalay (1984), и компьютерного программного обеспечения Chou и Martin (2005). Виды комбинированной обработки соединением А и уликсертинибом неожиданно показали сильный синергизм в отношении индуцирования апоптоза клеток HMC1.2 KIT V560G/D816V. На фиг. 8С представлен график, построенный на основе показателя аддитивности CI, демонстрирующий сильный синергизм для комбинации соединения А с уликсертинибом в отношении индуцирования апоптоза тучных клеток HMC1.2 KIT V560G/D816V.

Пример 9. Комбинированная обработка соединением В и уликсертинибом обеспечивает индуцирование апоптоза в линиях клеток мастоцитоза.

Комбинированную обработку соединением В и уликсертинибом, представляющим собой ингибитор ERK, можно оценивать в отношении индукции апоптоза в тучных клетках HMC1.2 KIT V560G/D816V. Таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности (CI), может быть создана как описано Chou и Talalay (1984) и с помощью компьютерного программного обеспечения Chou и Martin (2005). Виды комбинированной обработки соединением В и уликсертинибом могут использоваться для демонстрации синергизма в отношении индуцирования апоптоза клеток HMC1.2 KIT V560G/D816V. График, построенный на основе показателя аддитивности CI, может использоваться для демонстрации синергизма для комбинации соединения В и уликсертиниба в отношении индуцирования апоптоза тучных клеток HMC1.2 KIT V560G/D816V.

Пример 10. Комбинированная обработка соединением А и SCH772984 обеспечивает индуцирование апоптоза в линиях клеток мастоцитоза.

Комбинированную обработку соединением А и SCH772984, представляющим собой ингибитор ERK, можно оценивать в отношении индукции апоптоза в тучных клетках HMC1.2 KIT V560G/D816V. Таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности (CI), может быть создана как описано Chou и Talalay (1984) и с помощью компьютерного программного обеспечения Chou и Martin (2005). Виды комбинированной обработки соединением А и SCH772984 могут использоваться для демонстрации синергизма в отношении индуцирования апоптоза клеток HMC1.2 KIT V560G/D816V. График, построенный на основе показателя аддитивности CI, может использоваться для демонстрации синергизма для комбинации соединения А и SCH772984 в отношении индуцирования апоптоза тучных клеток HMC1.2 KIT V560G/D816V.

Пример 11. Комбинированная обработка соединением В и SCH772984 обеспечивает индуцирование апоптоза в линиях клеток мастоцитоза.

Комбинированную обработку соединением В и SCH772984, представляющим собой ингибитор ERK, можно оценивать в отношении индукции апоптоза в тучных клетках HMC1.2 KIT V560G/D816V. Таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности (CI), может быть создана как описано Chou и Talalay (1984) и с помощью компьютерного программного обеспечения Chou и Martin (2005). Виды комбинированной обработки соединением А и SCH772984 могут использоваться для демонстрации синергизма в отношении индуцирования апоптоза клеток HMC1.2 KIT V560G/D816V. График, построенный на основе показателя аддитивности CI, может использоваться для демонстрации синергизма для комбинации соединения В и SCH772984 в отношении индуцирования апоптоза тучных клеток HMC1.2 KIT V560G/D816V.

Пример 12. Комбинированная обработка соединением А и LY3009120 обеспечивает индуцирование апоптоза в линиях клеток мастоцитоза.

Комбинированную обработку соединением А и LY3009120, представляющим собой ингибитор RAF, можно оценивать в отношении индукции апоптоза в тучных клетках HMC1.2 KIT V560G/D816V. Таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с применением способа, основанного на определении показателя аддитивности (CI), может быть создана как описано Chou и Talalay (1984) и с помощью компьютерного программного обеспечения Chou и Martin (2005). Виды комбинированной обработки соединением А и LY3009120 могут использоваться для демонстрации синергизма в отношении индуцирования апоптоза клеток HMC1.2 KIT V560G/D816V. График, построенный на основе показателя аддитивности CI, может использоваться для демонстрации сильного синергизма для комбинации соединения А и LY3009120 в отношении индуцирования апоптоза тучных клеток HMC1.2 KIT V560G/D816V.

Пример 13. Комбинированная обработка соединением В и LY3009120 обеспечивает индуцирование апоптоза в линиях клеток мастоцитоза.

Комбинированную обработку соединением В и LY3009120, представляющим собой ингибитор RAF, можно оценивать в отношении индукции апоптоза в тучных клетках HMC1.2 KIT V560G/D816V. Таблица с данными о синергических эффектах основных анализируемых веществ, полученных с приме-

нением способа, основанного на определении показателя аддитивности (CI), может быть создана как описано Chou и Talalay (1984) и с помощью компьютерного программного обеспечения Chou и Martin (2005). Виды комбинированной обработки соединением В и LY3009120 могут использоваться для демонстрации синергизма в отношении индуцирования апоптоза клеток НМС1.2 КИТ V560G/D816V. График, построенный на основе показателя аддитивности CI, может использоваться для демонстрации синергизма для комбинации соединения В и LY3009120 в отношении индуцирования апоптоза тучных клеток НМС1.2 КИТ V560G/D816V.

Пример 14. Комбинированная обработка соединением А и траметинибом приводит к синергетическому снижению прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V.

Проводили исследование для демонстрации того, что комбинированная обработка соединением А и траметинибом, представляющим собой ингибитор МЕК, приводит к снижению роста колонии НМС1.2, по сравнению с обработкой с помощью любого отдельного средства. 10000 клеток НМС1.2 выращивали в мягком агаре и инкубировали с различными концентрациями соединения А, траметиниба или комбинации соединения А и траметиниба в течение 10 дней. Лекарственные средства для обработки удаляли и отслеживали прорастание колонии жизнеспособных клеток на протяжении 5 дополнительных дней.

На фиг. 9А представлено иллюстративное изображение прорастания колонии тучных клеток НМС1.2 после обработки траметинибом (0, 10 или 25 нМ), соединением А (0, 25 или 50 нМ) в виде отдельных средств или в виде матричной комбинации различных концентраций соединения А с различными концентрациями траметиниба. Тогда как обработка отдельным средством, представляющим собой соединение А или траметиниб, привела к прорастанию колонии при всех концентрациях через 5 дней после удаления лекарственного средства, комбинация соединения А с траметинибом привела к меньшему прорастанию колонии через 5 дней после удаления лекарственного средства. Комбинация соединения А (25 нМ) с траметинибом (25 нМ) привела к полному прекращению прорастания колонии через 5 дней после удаления лекарственного средства. Комбинация соединения А (50 нМ) с траметинибом (10 или 25 нМ) неожиданно привела к полному прекращению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива через 5 дней после удаления лекарственного средства, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой соединение А, или отдельным средством, представляющим собой траметиниб. При дополнительном увеличении прорастания колонии на протяжении 8 дополнительных дней (всего 13 дней) после удаления лекарственного средства все еще поддерживалось прекращение прорастания колонии до предела обнаружения посредством комбинации соединения А (50 нМ) и траметиниба (10 и 25 нМ). Однако ~15-20 колоний проросли после дополнительных 8 дней инкубации с комбинацией соединения А (25 нМ) и траметиниба (25 нМ). (фиг. 9А правая панель).

На фиг. 9В представлено графическое представление количественного определения прорастания колонии тучных клеток НМС1.2 после различных видов обработки, показанных на фиг. 9А. Комбинированная обработка соединением А при 50 нМ и траметинибом при либо 10 нМ, либо 25 нМ, неожиданно привела к прекращению прорастания колонии до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива (см. стрелки на фиг. 9В). Комбинированная обработка соединением А при 25 нМ и траметинибом при 25 нМ неожиданно привела к прекращению прорастания колонии до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива (см. стрелки на фиг. 9В), при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой либо соединение А, либо траметиниб.

Пример 15. Комбинированная обработка соединением В и траметинибом приводит к синергетическому снижению прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V.

Также проводили исследование посредством соединения В и траметиниба, представляющего собой ингибитор МЕК, для оценки снижения прорастания колонии в клетках НМС1.2, как описано в примере 14.

На фиг. 10А представлено иллюстративное изображение прорастания колонии тучных клеток НМС1.2 после обработки траметинибом (0, 10 или 25 нМ), соединением В (0, 25 или 50 нМ) в виде отдельных средств или в виде матричной комбинации различных концентраций соединения В с различными концентрациями траметиниба. Тогда как обработка отдельным средством, представляющим собой соединение В или траметиниб, привела к прорастанию колонии при всех концентрациях через 5 дней после удаления лекарственного средства, при этом комбинация соединения В с траметинибом привела к меньшему прорастанию колонии через 5 дней после удаления лекарственного средства. Комбинация соединения В (25 нМ) с траметинибом (25 нМ) привела к значительному снижению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 через 5 дней после удаления лекарственного средства. Комбинация соединения В (50 нМ) с траметинибом (10 или 25 нМ) неожиданно привела к полному прекращению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива через 5 дней после удаления лекарственного средства, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой соединение В, или отдельным средством, представляющим собой траметиниб. При дополнитель-

ном увеличении прорастания колонии на протяжении 8 дополнительных дней (всего 13 дней) после удаления лекарственного средства все еще поддерживалось прекращение прорастания колонии до предела обнаружения посредством комбинации соединения В (50 нМ) и траметиниба (25 нМ).

На фиг. 10В представлено графическое представление количественного определения прорастания колонии тучных клеток НМС1.2 после различных видов обработки, показанных на фиг. 10А. Комбинированная обработка соединением В при 50 нМ и траметинибом при либо 10 нМ, либо 25 нМ неожиданно привела к прекращению прорастания колонии до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой либо соединение В, либо траметиниб (см. стрелки на фиг. 10В).

Пример 16. Комбинированная обработка соединением А и биниметинибом приводит к синергетическому снижению прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V.

На фиг. 11А представлено иллюстративное изображение прорастания колонии тучных клеток НМС1.2 после обработки биниметинибом (0, 250 или 500 нМ), соединением А (0, 25 или 50 нМ) в виде отдельных средств или в виде матричной комбинации различных концентраций соединения А с различными концентрациями биниметиниба. Тогда как обработка отдельным средством, представляющим собой соединение А или биниметиниб, привела к прорастанию колонии при всех концентрациях через 5 дней после удаления лекарственного средства, комбинация соединения А с биниметинибом привела к меньшему прорастанию колонии через 5 дней после удаления лекарственного средства. Комбинация соединения А (25 нМ) с биниметинибом (250 нМ) привела к значительному снижению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 через 5 дней после удаления лекарственного средства. Комбинация соединения А (50 нМ) с биниметинибом (250 или 500 нМ) неожиданно привела к полному прекращению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива через 5 дней после удаления лекарственного средства, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой соединение А, или отдельным средством, представляющим собой биниметиниб. При дополнительном увеличении прорастания колонии на протяжении 8 дополнительных дней (всего 13 дней) после удаления лекарственного средства все еще поддерживалось прекращение прорастания колонии до предела обнаружения посредством комбинации соединения А (50 нМ) и биниметиниба (500 нМ). Однако ~10-15 колоний проросли при применении комбинации соединения А (50 нМ) и биниметиниба (250 нМ).

На фиг. 11В представлено графическое представление количественного определения прорастания колонии тучных клеток НМС1.2 после различных видов обработки, показанных на фиг. 11А. Комбинированная обработка соединением А при 50 нМ и биниметинибом при 250 или 500 нМ неожиданно привела к прекращению прорастания колонии до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой либо соединение А, либо биниметиниб (см. стрелки на фиг. 11В).

Пример 17. Комбинированная обработка соединением В и биниметинибом приводит к синергетическому снижению прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V.

На фиг. 12А представлено иллюстративное изображение прорастания колонии тучных клеток НМС1.2 после обработки биниметинибом (0, 250 или 500 нМ), соединением В (0, 25 или 50 нМ) в виде отдельных средств или в виде матричной комбинации различных концентраций соединения В с различными концентрациями биниметиниба. Тогда как обработка отдельным средством, представляющим собой соединение В или биниметиниб, привела к прорастанию колонии при всех концентрациях через 5 дней после удаления лекарственного средства, комбинация соединения В с биниметинибом привела к меньшему прорастанию колонии через 5 дней после удаления лекарственного средства. Комбинация соединения В (25 нМ) с биниметинибом (250 нМ) привела к значительному снижению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 через 5 дней после удаления лекарственного средства. Комбинация соединения В (25 нМ) с биниметинибом (500 нМ) привела к полному прекращению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 до предела обнаружения через 5 дней после удаления лекарственного средства, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива. Комбинация соединения В (50 нМ) с биниметинибом (250 или 500 нМ) неожиданно привела к полному прекращению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива через 5 дней после удаления лекарственного средства, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой соединение В, или отдельным средством, представляющим собой биниметиниб. При дополнительном увеличении прорастания колонии на протяжении 8 дополнительных дней (всего 13 дней) после удаления лекарственного средства все еще поддерживалось прекращение прорастания колонии до предела обнаружения посредством комбинации соединения В (50 нМ) и биниметиниба (250 и 500 нМ) и соединения В (25 нМ) и биниметиниба (500 нМ).

На фиг. 12В представлено графическое представление количественного определения прорастания колонии тучных клеток НМС1.2 после различных видов обработки, показанных на фиг. 12А. Комбини-



рованная обработка соединением В при 25 нМ и биниметинибом при 500 нМ и комбинированная обработка соединением В при 50 нМ и биниметинибом при либо 250 нМ, либо 500 нМ неожиданно привели к прекращению прорастания колонии до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой либо соединение В, либо биниметиниб (см. стрелки на фиг. 12В).

Пример 18. Комбинированная обработка соединением А и кобиметинибом приводит к синергетическому снижению прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V.

На фиг. 13А представлено иллюстративное изображение прорастания колонии тучных клеток НМС1.2 после обработки кобиметинибом (0, 25 или 50 нМ), соединением А (0, 25 или 50 нМ) в виде отдельных средств или в виде матричной комбинации различных концентраций соединения А с различными концентрациями кобиметиниба. Тогда как обработка отдельным средством, представляющим собой соединение А или кобиметиниб, привела к прорастанию колонии при всех концентрациях через 5 дней после удаления лекарственного средства, комбинация соединения А с кобиметинибом привела к меньшему прорастанию колонии через 5 дней после удаления лекарственного средства, по сравнению с обработкой любым отдельным средством. Комбинация соединения А (50 нМ) с кобиметинибом (25 или 50 нМ) привела к значительному снижению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 через 5 дней после удаления лекарственного средства.

На фиг. 13В представлено графическое представление количественного определения прорастания колонии тучных клеток НМС1.2 после различных видов обработки, показанных на фиг. 13А. Комбинированная обработка соединением А при 50 нМ и кобиметинибом при либо 25 нМ, либо 50 нМ привела к значительному снижению прорастания колонии по сравнению с обработкой отдельным средством, представляющим собой либо соединение А, либо кобиметиниб.

Пример 19. Комбинированная обработка соединением В и кобиметинибом приводит к синергетическому снижению прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V.

На фиг. 14А представлено иллюстративное изображение прорастания колонии тучных клеток НМС1.2 после обработки кобиметинибом (0, 25 или 50 нМ), соединением В (0, 25 или 50 нМ) в виде отдельных средств или в виде матричной комбинации различных концентраций соединения В с различными концентрациями кобиметиниба. При этом обработка отдельным средством, представляющим собой соединение В или кобиметиниб, привела к прорастанию колонии при всех концентрациях через 5 дней после удаления лекарственного средства, при этом комбинация соединения В с кобиметинибом привела к меньшему прорастанию колонии через 5 дней после удаления лекарственного средства, по сравнению с обработкой любым отдельным средством. Комбинация соединения В (50 нМ) с кобиметинибом (25 или 50 нМ) привела к значительному снижению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 через 5 дней после удаления лекарственного средства.

На фиг. 14В представлено графическое представление количественного определения прорастания колонии тучных клеток НМС1.2 после различных видов обработки, показанных на фиг. 14А. Комбинированная обработка соединением В при 50 нМ и кобиметинибом при либо 25 нМ, либо 50 нМ привела к значительному снижению прорастания колонии по сравнению с обработкой отдельным средством, представляющим собой либо соединение В, либо кобиметиниб.

Пример 20. Комбинированная обработка соединением А и уликсертинибом, представляющим собой ингибитор ERK, приводит к снижению прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V.

Комбинированную обработку соединением А и уликсертинибом можно оценивать в отношении ингибирования прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V в соответствии со способом из примера 14.

Пример 21. Комбинированная обработка соединением В и уликсертинибом, представляющим собой ингибитор ERK, приводит к снижению прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V.

Комбинированную обработку соединением В и уликсертинибом можно оценивать в отношении ингибирования прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V в соответствии со способом из примера 14.

Пример 22. Комбинированная обработка соединением А и LY3009120, представляющим собой ингибитор RAF, приводит к снижению прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V.

Комбинированную обработку соединением А и LY3009120, представляющим собой ингибитор RAF, можно оценивать в отношении ингибирования прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V в соответствии со способом из примера 14.

Пример 23. Комбинированная обработка соединением В и LY3009120 приводит к снижению прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V.

Комбинированную обработку соединением В и LY3009120, представляющим собой ингибитор RAF, можно оценивать в отношении ингибирования прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V в соответствии со способом из примера 14.

Пример 24. Комбинированная обработка соединением А и траметинибом, представляющим собой ингибитор MEK обеспечивает индукцию апоптоза в мутантной линии клеток мастоцита НМС1.2 КИТ

V560G/D816V, трансфицированной N-gas G12D.

Проводили исследование для демонстрации того, что комбинированная обработка соединением А и траметинибом обеспечивала индуцирование апоптоза в мутантных клетках HMC1.2 V560G/D816V, трансфицированных N-gas G12D. Анализы проводили в 96-луночных планшетах с посевом 10000 клеток на лунку. Клетки обрабатывали контролем со средой-носителем, соединением А, траметинибом или их комбинациями в различных концентрациях и обеспечивали рост клеток в течение 24 и 48 ч. Апоптоз оценивали посредством измерения активности каспазы 3/7.

На фиг. 15А представлено графическое представление, на котором продемонстрирована относительная доля в процентах активности каспазы, определенной для различных видов обработки через 24 ч. Комбинированная обработка соединением А и траметинибом в течение 24 ч обеспечивала индуцирование апоптоза клеток HMC1.2 V560G/D816V, трансфицированных пустым вектором (EV) (левая панель), или мутантных клеток HMC1.2 V560G/D816V, трансфицированных N-gas G12D (правая панель). Комбинация соединения А с траметинибом приводит к синергетическому повышению апоптоза в клетках HMC1.2, трансфицированных EV и трансфицированных N-gas G12D.

На фиг. 15В представлено графическое представление, на котором продемонстрирована относительная доля в процентах активности каспазы, определенной для различных видов обработки через 48 ч. Комбинированная обработка соединением А и траметинибом в течение 48 ч обеспечивала индуцирование апоптоза клеток HMC1.2 V560G/D816V, трансфицированных пустым вектором (EV) (левая панель), или мутантных клеток HMC1.2 V560G/D816V, трансфицированных N-gas G12D (правая панель). Комбинация соединения А с траметинибом приводит к синергетическому повышению апоптоза в клетках HMC1.2, трансфицированных EV и трансфицированных N-gas G12D. Апоптоз был выше в клетках, трансфицированных N-gas, чем в клетках, трансфицированных EV.

Пример 25. Комбинированная обработка соединением А и кобиметинибом, представляющим собой ингибитор MEK обеспечивает индукцию апоптоза в мутантной линии клеток мастоцитоза HMC1.2 KIT V560G/D816V, трансфицированной N-gas G12D.

На фиг. 16А представлено графическое представление, на котором продемонстрирована относительная доля в процентах активности каспазы, определенной для различных видов обработки через 24 ч. Комбинированная обработка соединением А и кобиметинибом в течение 24 ч обеспечивала индуцирование апоптоза клеток HMC1.2 V560G/D816V, трансфицированных пустым вектором (EV) (левая панель), или мутантных клеток HMC1.2 V560G/D816V, трансфицированных N-gas G12D (правая панель). Комбинация соединения А с кобиметинибом приводит к синергетическому повышению апоптоза в клетках HMC1.2, трансфицированных EV и трансфицированных N-gas G12D. Апоптоз был выше в клетках, трансфицированных N-gas, чем в клетках, трансфицированных EV.

На фиг. 16В представлено графическое представление, на котором продемонстрирована относительная доля в процентах активности каспазы, определенной для различных видов обработки через 48 ч. Комбинированная обработка соединением А и кобиметинибом в течение 48 ч обеспечивала индуцирование апоптоза клеток HMC1.2 V560G/D816V, трансфицированных пустым вектором (EV) (левая панель), или мутантных клеток HMC1.2 V560G/D816V, трансфицированных N-gas G12D (правая панель). Комбинация соединения А с кобиметинибом приводит к синергетическому повышению апоптоза в клетках HMC1.2, трансфицированных EV и трансфицированных N-gas G12D. Апоптоз был выше в клетках, трансфицированных N-gas, чем в клетках, трансфицированных EV.

Пример 26. Комбинированная обработка соединением А и траметинибом, представляющим собой ингибитор MEK, приводит к синергетическому снижению прорастания колонии линии тучных клеток HMC1.2 KIT D816V, трансфицированных N-gas G12D или пустым вектором.

Проводили исследование для демонстрации того, что комбинированная обработка соединением А и траметинибом приводит к снижению прорастанию колонии HMC1.2, трансфицированной пустым вектором (EV) или трансфицированной N-gas G12D, по сравнению с обработкой любым отдельным средством. Клетки HMC1.2 инкубировали с различными концентрациями соединения А, траметиниба или комбинации соединения А и траметиниба в течение 10 дней. Лекарственные средства для обработки удаляли и отслеживали прорастание колонии жизнеспособных клеток на протяжении 5 или 13 дополнительных дней.

На фиг. 17А представлено иллюстративное изображение прорастания колонии тучных клеток HMC1.2, трансфицированных EV, после обработки траметинибом (0, 1, 10 или 25 нМ), соединением А (0, 25 или 50 нМ) в виде отдельных средств или в виде матричной комбинации различных концентраций соединения А с различными концентрациями траметиниба. Тогда как обработка отдельным средством, представляющим собой соединение А или траметиниб, привела к прорастанию колонии при всех концентрациях через 5 дней после удаления лекарственного средства, комбинация соединения А с траметинибом привела к меньшему прорастанию колонии через 5 дней после удаления лекарственного средства. Комбинация соединения А (50 нМ) с траметинибом (1 нМ) привела к значительному снижению прорастания колонии в комбинации с 1 нМ траметиниба по сравнению с обработкой отдельным средством, представляющим собой соединение А, или обработкой отдельным средством, представляющим собой траметиниб. Комбинация соединения А (50 нМ) с траметинибом (10 или 25 нМ) неожиданно привела к

полному прекращению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива через 5 дней после удаления лекарственного средства, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой соединение А, или отдельным средством, представляющим собой траметиниб. При дополнительном увеличении прорастания колонии в течение 8 дополнительных дней после удаления лекарственного средства (всего 13 дней после удаления лекарственного средства) все еще поддерживалось прекращение прорастания колонии до предела обнаружения посредством комбинации соединения А (50 нМ) и траметиниба (25 нМ).

На фиг. 17В представлено графическое представление количественного определения прорастания колонии тучных клеток НМС1.2, трансфицированных EV, после различных видов обработки, показанных на фиг. 17А. Комбинированная обработка соединением А при 50 нМ и траметинибом при либо 10 нМ, либо 25 нМ неожиданно привела к прекращению прорастания колонии до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой либо соединение А, либо траметиниб (см. стрелки на фиг. 17В).

На фиг. 17С представлено иллюстративное изображение прорастания колонии клеток НМС1.2, трансфицированных N-gas G12D, после обработки траметинибом (0, 1, 10 или 25 нМ), соединением А (0, 25 или 50 нМ) в виде отдельных средств или в виде матричной комбинации различных концентраций соединения А с различными концентрациями траметиниба. Тогда как обработка отдельным средством, представляющим собой соединение А или траметиниб, привела к прорастанию колонии при всех концентрациях через 5 дней после удаления лекарственного средства, комбинация соединения А с траметинибом привела к меньшему прорастанию колонии через 5 дней после удаления лекарственного средства. Комбинация соединения А (25 нМ) с траметинибом (25 нМ) привела к значительному снижению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 через 5 дней после удаления лекарственного средства, и комбинация соединения А (50 нМ) с траметинибом (10 или 25 нМ) неожиданно привела к полному прекращению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2, трансфицированных N-gas G12D, до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива через 5 дней после удаления лекарственного средства, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой либо соединение А, либо траметиниб. При дополнительном увеличении прорастания колонии на протяжении 8 дополнительных дней после удаления лекарственного средства (всего 13 дней после удаления лекарственного средства) все еще поддерживалось прекращение прорастания колонии посредством комбинации соединения А (50 нМ) и траметиниба (25 нМ) (фиг. 17С).

На фиг. 17D представлено графическое представление количественного определения прорастания колонии после различных видов обработки, показанных на фиг. 17С. Виды комбинированной обработки соединением А и траметинибом привели к превосходному блокированию прорастания колонии по сравнению с обработкой любым отдельным средством. Комбинированная обработка соединением А при 50 нМ и траметинибом при либо 10 нМ, либо 25 нМ неожиданно привела к прекращению прорастания колонии до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива через 5 дней после удаления лекарственного средства, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой либо соединение А, либо траметиниб (см. стрелки на фиг. 17D).

Пример 27. Комбинированная обработка соединением А и кобиметинибом приводит к синергетическому снижению прорастания колонии линии тучных клеток НМС1.2 КИТ D816V, трансфицированных N-gas G12D или пустым вектором.

Проводили исследование для демонстрации того, что комбинированная обработка соединением А и кобиметинибом приводит к снижению прорастанию колонии НМС1.2, трансфицированной пустым вектором (EV) или трансфицированной N-gas G12D, по сравнению с обработкой любым отдельным средством. Клетки НМС1.2 инкубировали с различными концентрациями соединения А, кобиметиниба или комбинации соединения А и кобиметиниба в течение 10 дней. Лекарственные средства для обработки удаляли и отслеживали прорастание колонии жизнеспособных клеток на протяжении 5 или 10 дополнительных дней.

На фиг. 18А представлено иллюстративное изображение прорастания колонии тучных клеток НМС1.2, трансфицированных EV, после обработки кобиметинибом (25 или 50 нМ), соединением А (0, 25 или 50 нМ) в виде отдельных средств или в виде матричной комбинации различных концентраций соединения А с различными концентрациями кобиметиниба. Тогда как обработка отдельным средством, представляющим собой соединение А или кобиметиниб, привела к прорастанию колонии при всех концентрациях через 5 дней после удаления лекарственного средства, комбинация соединения А с кобиметинибом привела к меньшему прорастанию колонии через 5 дней после удаления обработки лекарственным средством. Комбинация соединения А (25 нМ) с кобиметинибом (25 и 50 нМ) привела к значительному снижению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 через 5 дней после удаления обработки лекарственным средством. Комбинация соединения А (50 нМ) с кобиметинибом (50 нМ) неожиданно

привела к полному прекращению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива через 5 дней после удаления обработки лекарственным средством, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой соединение А, или отдельным средством, представляющим собой кобиметиниб. При дополнительном увеличении прорастания колонии в течение 5 дополнительных дней после удаления обработки лекарственным средством (всего 10 дней после удаления лекарственного средства) все еще поддерживалось прекращение прорастания колонии до предела обнаружения посредством комбинации соединения А (50 нМ) и кобиметиниба (50 нМ).

На фиг. 18В представлено графическое представление количественного определения прорастания колонии тучных клеток НМС1.2, трансфицированных EV, после различных видов обработки, показанных на фиг. 18А. Комбинированная обработка соединением А при 50 нМ и кобиметинибом при 50 нМ неожиданно привела к прекращению прорастания колонии до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой либо А, либо кобиметиниб (см. стрелки на фиг. 18В).

На фиг. 18С представлено иллюстративное изображение прорастания колонии тучных клеток НМС1.2, трансфицированных N-gas G12D, после обработки кобиметинибом (0, 25 или 50 нМ), соединением А (0, 25 или 50 нМ) в виде отдельных средств или в виде матричной комбинации различных концентраций соединения А с различными концентрациями кобиметиниба. Тогда как обработка отдельным средством, представляющим собой соединение А или кобиметиниб, привела к прорастанию колонии при всех концентрациях через 5 дней после удаления обработки лекарственным средством, комбинация соединения А с кобиметинибом привела к меньшему прорастанию колонии через 5 дней после удаления обработки лекарственным средством. Комбинация соединения А (25 нМ) с кобиметинибом (25 и 50 нМ) привела к значительному снижению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 через 5 дней после удаления лекарственного средства. Комбинация соединения А (50 нМ) с кобиметинибом (25 или 50 нМ) неожиданно привела к полному прекращению прорастания жизнеспособных клеток НМС1.2 до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива через 5 дней после удаления обработки лекарственным средством, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой соединение А, или отдельным средством, представляющим собой кобиметиниб. При дополнительном увеличении прорастания колонии в течение 10 дополнительных дней после удаления обработки лекарственным средством все еще поддерживалось прекращение прорастания колонии до предела обнаружения посредством комбинации соединения А (50 нМ) и кобиметиниба (25 или 50 нМ).

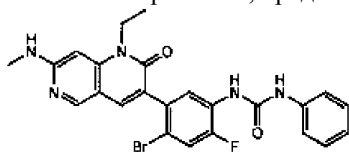
На фиг. 18D представлено графическое представление количественного определения прорастания колонии после различных видов обработки, показанных на фиг. 18С. Виды комбинированной обработки соединением А и кобиметинибом привели к превосходному блокированию прорастания колонии по сравнению с обработкой любым отдельным средством. Комбинированная обработка соединением А при 50 нМ и кобиметинибом при 25 или 50 нМ неожиданно привела к прекращению прорастания колонии до предела обнаружения, что определяли посредством визуализации с помощью микроскопии с использованием 5X объектива через 5 дней после удаления лекарственного средства, при этом прекращение не наблюдалось после обработки отдельным средством, представляющим собой либо соединение А, либо кобиметиниб (см. стрелки на фиг. 18D).

Эквиваленты.

Специалисту в данной области техники будет понятно или он будет способен установить с применением не более чем обычных экспериментов многочисленные эквиваленты конкретных вариантов осуществления, конкретно описанных в настоящем изобретении. Предполагается, что такие эквиваленты включены в объем нижеследующей формулы изобретения.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения мастоцитоза у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту эффективного количества ингибитора с-KIT, представленного соединением А



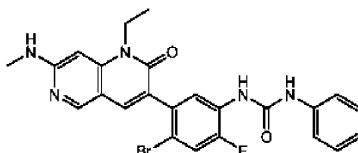
(Соединение А),

или его фармацевтически приемлемой соли; и эффективного количества одного или более ингибиторов пути MAPKAP, выбранного из группы, состоящей из митоген-активируемой протеинкиназы (ингибитора MEK), выбранной из группы, состоящей из траметиниба, селуметиниба, кобиметиниба и биниметиниба, или ингибитора киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (ингибитора ERK), выбранной из группы, состоящей из уликсертиниба,

SCH772984 и LY3214996, и ингибитора киназы быстро прогрессирующей фибросаркомы (RAF), выбранного из группы, состоящей из вемурафениба, дабрафениба и LY3009120.

2. Способ по п.1, где мастоцитоз характеризуется мутацией с-KIT.
3. Способ по п.2, где мутация с-KIT представляет собой активирующую мутацию.
4. Способ по п.3, где с-KIT мутация представляет собой мутацию с-KIT D816.
5. Способ по любому из пп.2-4, где мутация с-KIT D816V представляет собой первичную с-KIT мутацию.
6. Способ по любому из пп.1-5, где мастоцитоз предусматривает тучные клетки, содержащие вторичную мутацию с-KIT.
7. Способ по п.6, где вторичная мутация с-KIT представляет собой одну из мутаций Y269C, Y503\_F504insAY, V560D или K642E.
8. Способ по любому из пп.5-7, дополнительно включающий определение того, характеризуется ли мастоцитоз первичной мутацией с-KIT.
9. Способ по любому из пп.5-7, дополнительно включающий определение того, характеризуется ли мастоцитоз вторичной мутацией с-KIT.
10. Способ по п.8 или 9, где определение того, характеризуется ли мастоцитоз первичной или вторичной мутацией с-KIT, включает идентификацию мутаций в ДНК, выделенной из образца опухоли.
11. Способ по п.8 или 9, где определение того, характеризуется ли мастоцитоз первичной или вторичной мутацией с-KIT, включает идентификацию мутаций в циркулирующей опухолевой ДНК или в лейкоцитах циркулирующей периферической крови.
12. Способ по любому из пп.1-11, где мастоцитоз представляет собой системный мастоцитоз.
13. Способ по п.12, где системный мастоцитоз выбран из группы, состоящей из индолентного системного мастоцитоза, вялотекущего системного мастоцитоза, системного мастоцитоза с ассоциированным заболеванием, связанным с линией дифференцировки клональных гематологических клеток, отличных от тучных клеток, агрессивного системного мастоцитоза, лейкоза из тучных клеток и саркомы из тучных клеток.
14. Способ по п.12, где мастоцитоз представляет собой индолентный системный мастоцитоз, необязательно системный мастоцитоз с возвратной анафилаксией или сосудистым коллапсом в отсутствие повреждений кожи.
15. Способ по п.12, где мастоцитоз представляет собой лейкоз из тучных клеток или саркому из тучных клеток.
16. Способ по любому из пп.1-11, где мастоцитоз представляет собой кожный мастоцитоз.
17. Способ по п.16, где мастоцитоз выбран из группы, состоящей из макулопапулезного кожного мастоцитоза, мастоцитомы или диффузного кожного мастоцитоза.
18. Способ по любому из пп.1-17, где ингибитор пути MAPKAP представляет собой ингибитор MEK, выбранный из группы, состоящей из траметиниба, селуметиниба, кобиметиниба и биниметиниба.
19. Способ по любому из пп.1-17, где ингибитор пути MAPKAP представляет собой ингибитор ERK, выбранный из группы, состоящей из уликсертиниба, SCH772984 и LY3214996.
20. Способ по любому из пп.1-19, где ингибитор с-KIT и ингибитор MEK и/или ERK вводят практически одновременно или последовательно.
21. Способ по любому из пп.1-20, дополнительно включающий введение другого средства таргетной противораковой терапии, биологического средства таргетной противораковой терапии, ингибитора контрольных точек иммунного ответа или химиотерапевтического средства.
22. Способ лечения системного мастоцитоза у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту

эффективного количества соединения А



или ее фармацевтически приемлемой соли; и

эффективного количества одного или более ингибиторов пути MAPKAP, выбранного из группы, состоящей из митоген-активируемой протеинкиназы (ингибитора MEK), выбранной из группы, состоящей из траметиниба, селуметиниба, кобиметиниба и биниметиниба, ингибитора киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (ингибитора ERK), выбранной из группы, состоящей из уликсертиниба, SCH772984 и LY3214996.

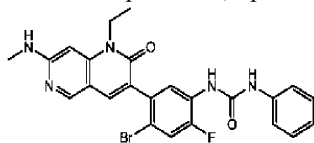
23. Способ по п.22, где системный мастоцитоз характеризуется мутацией с-KIT.
24. Способ по п.23, где мутация представляет собой мутацию с-KIT D816.
25. Способ по п.23 или 24, где мутация представляет собой D816V.
26. Способ по любому из пп.22-25, где мастоцитоз характеризуется дополнительной мутацией

c-KIT, которая представляет собой мутацию Y269C, Y503\_F504insAY, V560D или K642E.

27. Способ по любому из пп.22-26, где ингибитор пути MAPKAP представляет собой ингибитор MEK, выбранный из группы, состоящей из траметиниба, селуметиниба, кобиметиниба и биниметиниба.

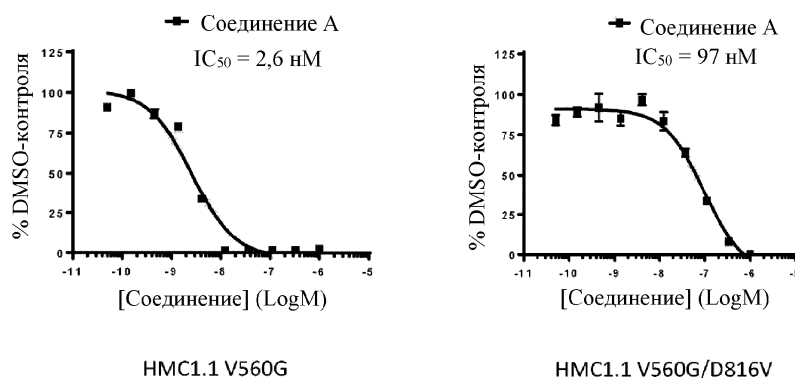
28. Способ по любому из пп.22-26, где ингибитор пути MAPKAP представляет собой ингибитор ERK, выбранный из группы, состоящей из уликсертиниба, SCH772984 и LY3214996.

29. Способ лечения мастоцитоза у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту эффективного количества ингибитора c-KIT, представленного соединением А

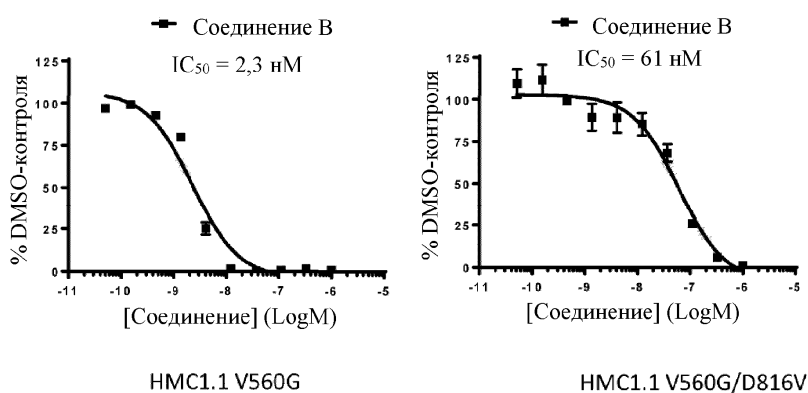


(Соединение А),

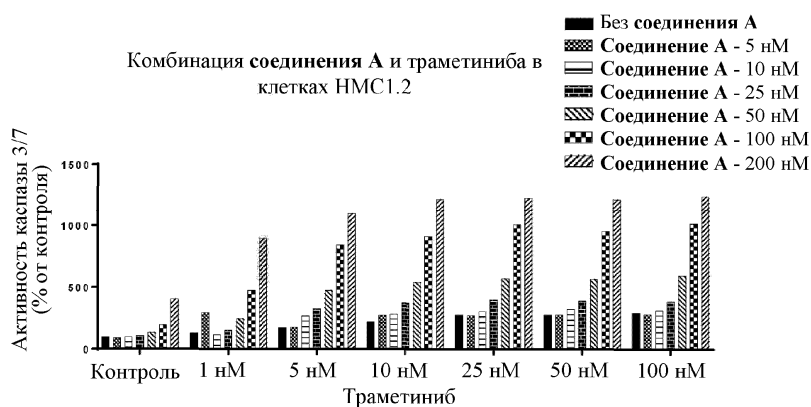
или его фармацевтически приемлемой соли; и эффективного количества ингибитора RAF, где ингибитор RAF выбран из группы, состоящей из вемурафениба, дабрафениба и LY3009120.



Фиг. 1А



Фиг. 1В

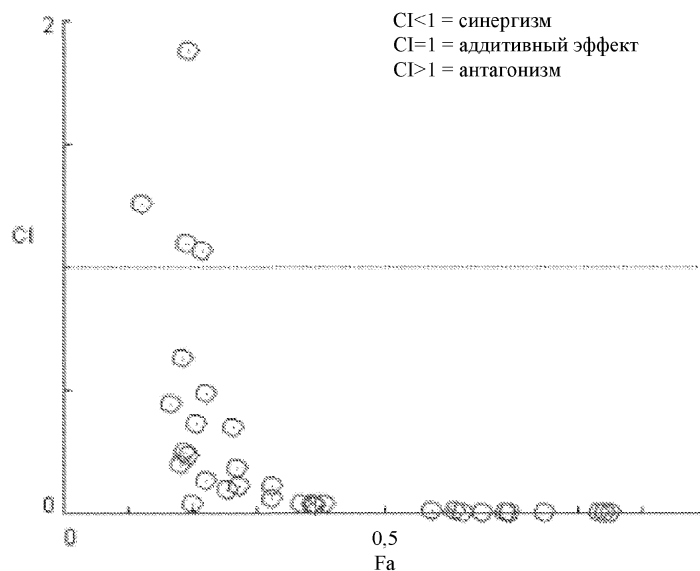


Фиг. 2А

Показатель аддитивности	Соединение А 5 нМ	Соединение А 10 нМ	Соединение А 25 нМ	Соединение А 50 нМ	Соединение А 100 нМ	Соединение А 200 нМ
Траметиниб, 1 нМ	0,03993	2,64367	6,01481	0,44649	0,11076	0,01411
Траметиниб, 5 нМ	1,25589	0,19588	0,13256	0,05909	0,0101	0,00315
Траметиниб, 10 нМ	0,24985	0,23826	0,09809	0,03722	0,0063	9,34E-04
Траметиниб, 25 нМ	0,63422	0,36434	0,10901	0,03338	0,0032	8,28E-04
Траметиниб, 50 нМ	1,10038	0,48744	0,18814	0,03977	0,00477	9,35E-04
Траметиниб, 100 нМ	1,87791	1,06924	0,35501	0,04047	0,00308	6,93E-04

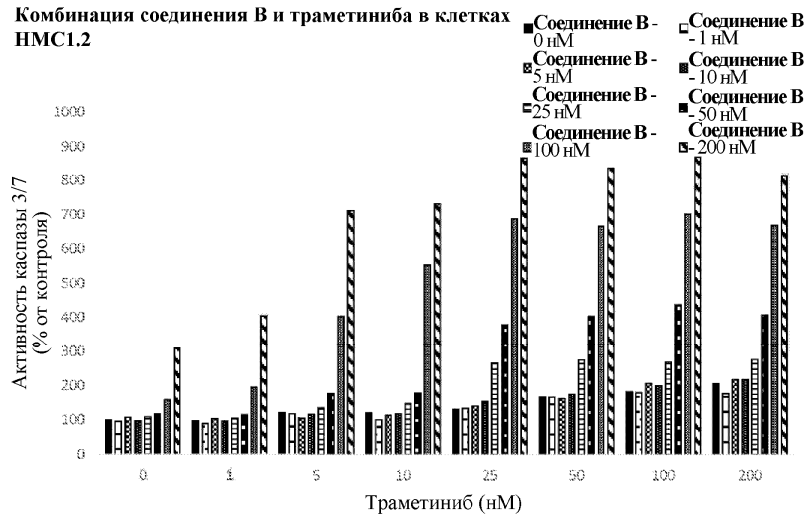
Фиг. 2В

График, построенный на основе показателя аддитивности



Фиг. 2С

Комбинация соединения В и траметиниба в клетках НМС1.2

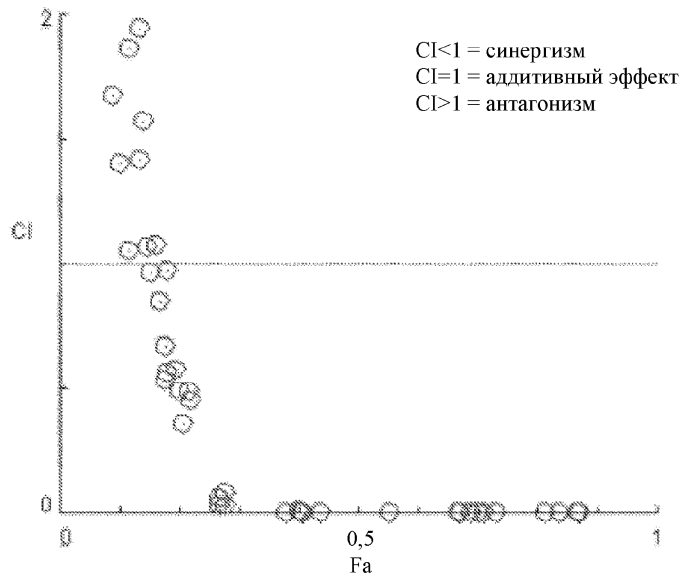


Фиг. 3А

CI	Соединение В 1 нМ	Соединение В 5 нМ	Соединение В 10 нМ	Соединение В 25 нМ	Соединение В 50 нМ	Соединение В 100 нМ	Соединение В 200 нМ
Траметиниб, 1 нМ	1,68069	1,40334	3,41889	5,07162	5,64363	0,57337	0,00964
Траметиниб, 5 нМ	1,05523	2,96535	1,86572	1,4174	0,53113	0,00478	2,29E-05
Траметиниб, 10 нМ	5,38596	3,16063	2,68309	1,06576	0,56445	2,84E-04	1,44E-05
Траметиниб, 25 нМ	1,94547	1,57549	0,96476	0,03258	0,00435	1,97E-05	2,51E-07
Траметиниб, 50 нМ	0,85054	1,07585	0,6726	0,0344	0,00289	3,12E-05	7,64E-07
Траметиниб, 100 нМ	0,97626	0,35944	0,48969	0,06284	0,00169	1,52E-05	2,14E-07
Траметиниб, 200 нМ	2,11003	0,45464	0,48568	0,08116	0,00419	3,14E-05	1,63E-06

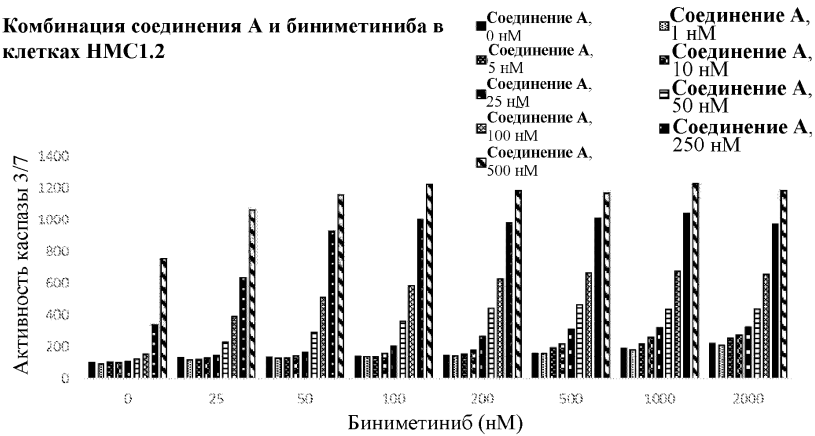
Фиг. 3В

График, построенный на основе показателя аддитивности



Фиг. 3С

Комбинация соединения А и биниметиниба в клетках НМС1.2

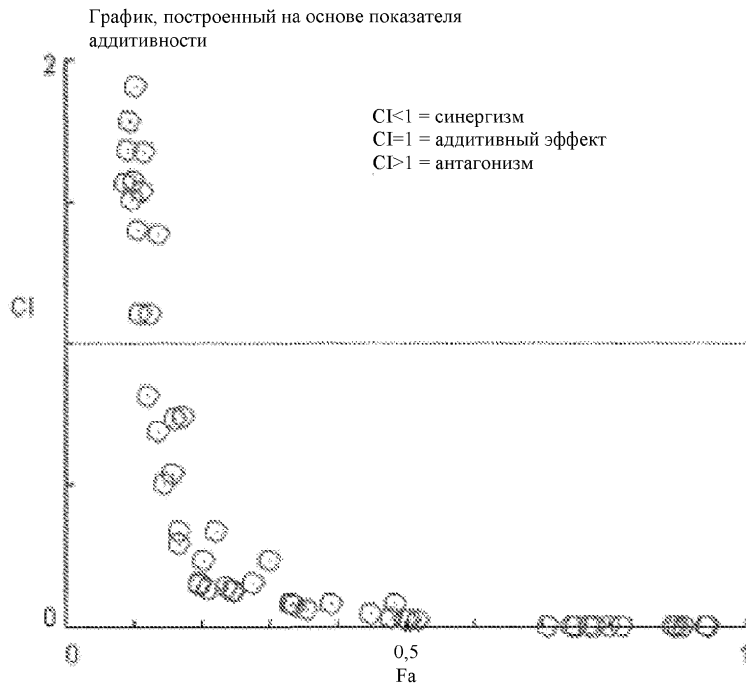


Фиг. 4А



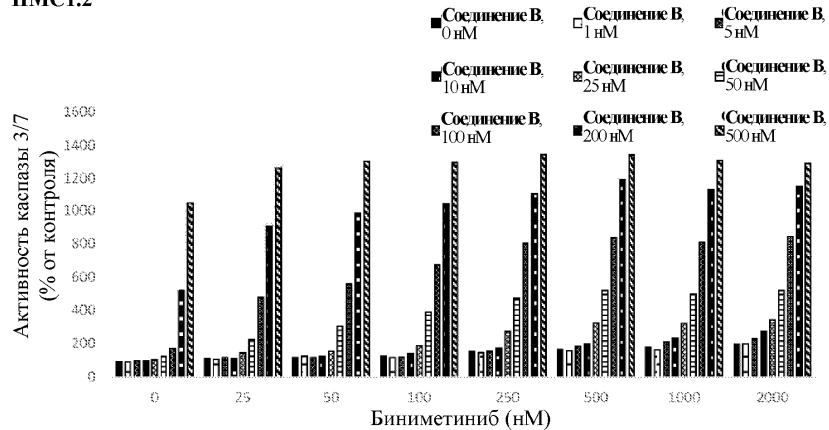
CI	Соединение А 0 нМ	Соединение А 5 нМ	Соединение А 10 нМ	Соединение А 25 нМ	Соединение А 50 нМ	Соединение А 100 нМ	Соединение А 250 нМ	Соединение А 500 нМ
Биниметиниб 25 нМ	1,57049	1,6855	1,51394	1,54333	0,74303	0,23806	0,07988	0,00293
Биниметиниб 50 нМ	1,78444	1,57824	1,10552	1,1015	0,33617	0,08494	0,00687	5,98E-04
Биниметиниб 100 нМ	1,40574	1,90927	0,81771	0,53885	0,15853	0,04623	0,00308	1,07E-04
Биниметиниб 250 нМ	2,92199	1,67399	0,69022	0,233	0,0771	0,03398	0,00408	1,07E-04
Биниметиниб 500 нМ	2,19283	0,50712	0,29592	0,13935	0,06226	0,02526	0,00273	5,07E-04
Биниметиниб 1000 нМ	1,38598	0,3404	0,14626	0,12693	0,08277	0,02281	0,00192	9,26E-05
Биниметиниб 2000 нМ	0,73725	0,15871	0,13631	0,12471	0,08017	0,02714	0,00442	3,54E-04

Фиг. 4В



Фиг. 4С

**Комбинация соединения В и биниметиниба в клетках НМС1.2**

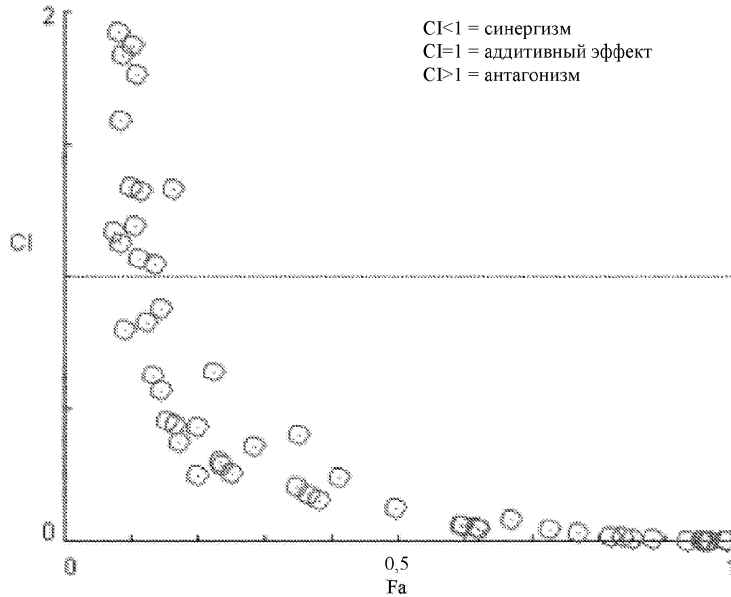


Фиг. 5А

CI	Соединение В 1 нМ	Соединение В 5 нМ	Соединение В 10 нМ	Соединение В 25 нМ	Соединение В 50 нМ	Соединение В 100 нМ	Соединение В 200 нМ	Соединение В 500 нМ
Биниметинис 25 нМ	1,16697	1,12369	1,92347	1,87175	1,33032	0,40022	0,08512	0,00433
Биниметинис 50 нМ	0,80429	1,59151	1,83453	1,76275	0,64013	0,24461	0,04974	0,00128
Биниметинис 100 нМ	2,04491	2,46078	1,33485	1,04913	0,35742	0,12945	0,03332	0,00166
Биниметинис 250 нМ	1,19498	1,06822	0,83211	0,43195	0,20689	0,06245	0,01894	3,14E-05
Биниметинис 500 нМ	1,32017	0,62726	0,56972	0,28981	0,15592	0,0513	0,00726	5,92E-05
Биниметинис 1000 нМ	2,02996	0,4532	0,37085	0,30154	0,17875	0,06054	0,01473	0,00107
Биниметинис 2000 нМ	0,8794	0,43685	0,25074	0,25665	0,1561	0,04969	0,0117	0,00191

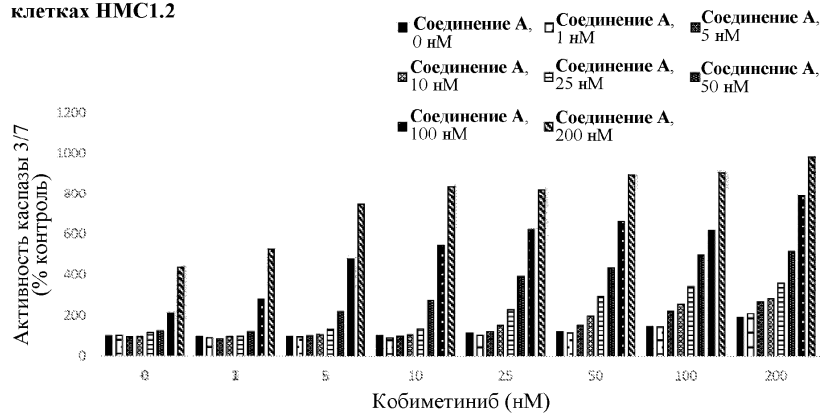
Фиг. 5В

График, построенный на основе показателя аддитивности



Фиг. 5С

**Комбинация соединения А и кобиметиниба в клетках НМС1.2**

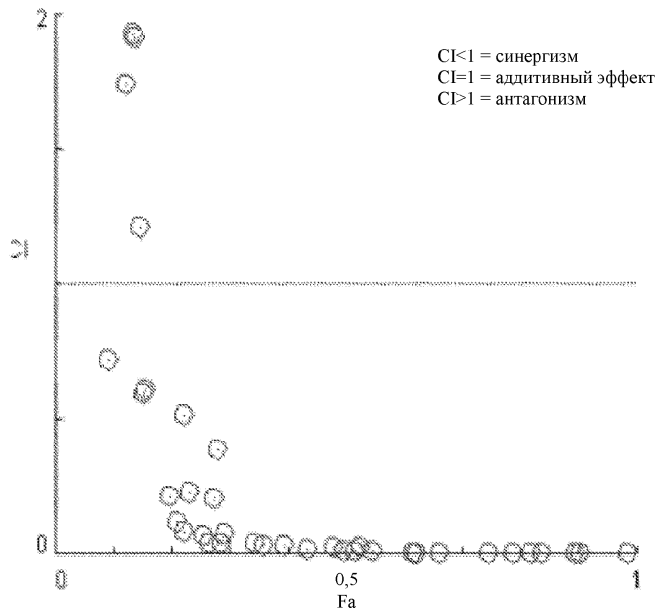


Фиг. 6А

CI	Соединение А 1 нМ	Соединение А 5 нМ	Соединение А 10 нМ	Соединение А 25 нМ	Соединение А 50 нМ	Соединение А 100 нМ	Соединение А 200 нМ
Кобиметиниб 1 нМ	0,72367	2,58457	2,84597	6,37493	5,86712	0,38735	0,02608
Кобиметиниб 5 нМ	2,03327	2,22709	2,49475	1,92929	0,5199	0,02364	0,00107
Кобиметиниб 10 нМ	4,07508	3,47138	3,05888	1,91627	0,20704	0,00993	1,78E-04
Кобиметиниб 25 нМ	4,08228	1,74076	0,60978	0,22536	0,03575	0,0036	2,63E-04
Кобиметиниб 50 нМ	3,97974	0,59607	0,21652	0,07886	0,02071	0,00202	3,67E-05
Кобиметиниб 100 нМ	1,21021	0,08536	0,0658	0,03731	0,00925	0,00381	2,38E-05
Кобиметиниб 200 нМ	0,11777	0,03679	0,04185	0,02953	0,00733	2,49E-04	4,83E-08

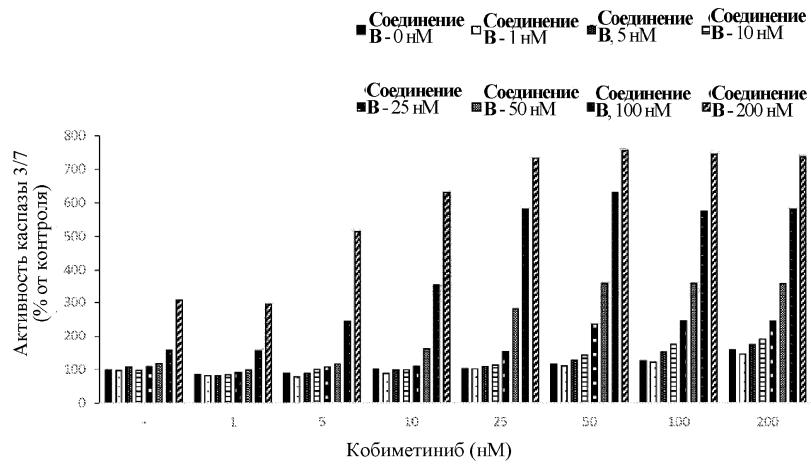
Фиг. 6В

График, построенный на основе показателя аддитивности



Фиг. 6С

Комбинация соединения В и кобиметиниба в клетках НМС1.2

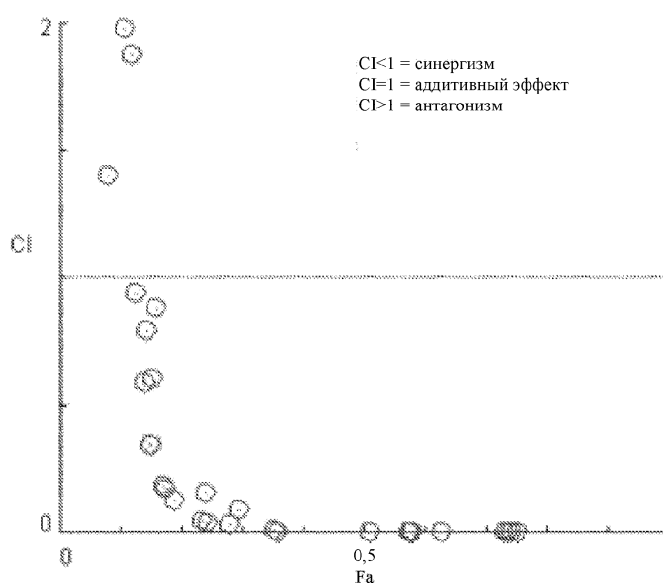


Фиг. 7А

CI	Соединение В 1 нМ	Соединение В 5 нМ	Соединение В 10 нМ	Соединение В 25 нМ	Соединение В 50 нМ	Соединение В 100 нМ	Соединение В 200 нМ
Кобиметиниб 1 нМ	1,39961	3,77808	5,66631	9,38659	11,3003	2,06695	0,08926
Кобиметиниб 5 нМ	5,34532	4,24727	2,63326	4,01626	5,27338	0,1571	0,00124
Кобиметиниб 10 нМ	4,35207	2,99291	3,57716	3,86343	0,87975	0,01274	1,33E-04
Кобиметиниб 25 нМ	2,75567	1,98415	2,09289	0,60486	0,03221	1,80E-04	1,49E-05
Кобиметиниб 50 нМ	2,28329	0,93831	0,593	0,04964	0,00576	6,67E-05	8,50E-06
Кобиметиниб 100 нМ	1,88398	0,34755	0,17375	0,03918	0,00578	1,98E-04	1,09E-05
Кобиметиниб 200 нМ	0,79643	0,18837	0,12431	0,04216	0,00592	1,77E-04	1,29E-05

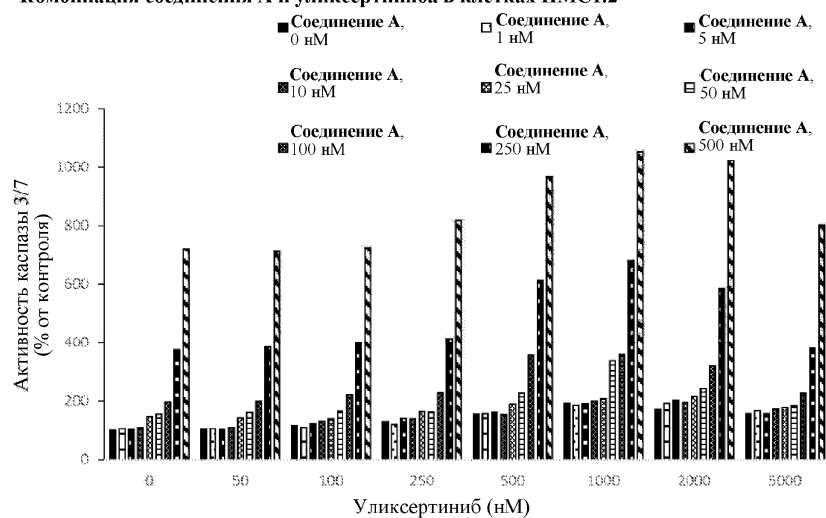
Фиг. 7B

График, построенный на основе показателя аддитивности



Фиг. 7C

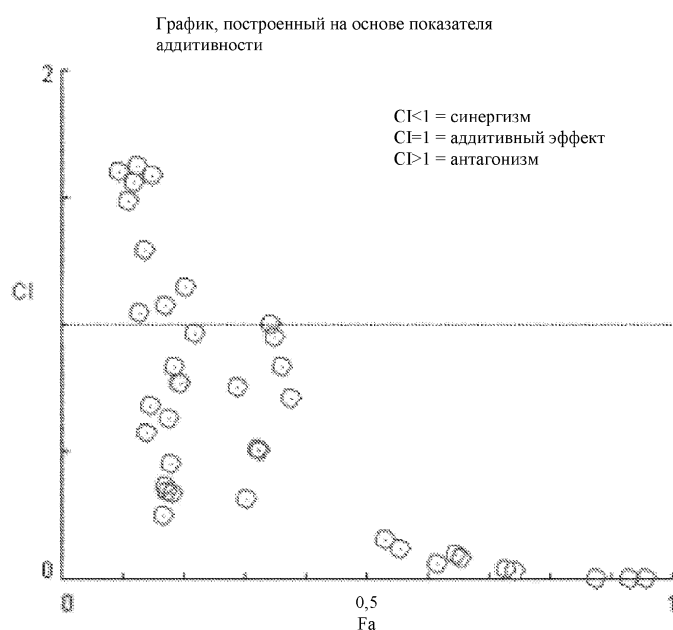
### Комбинация соединения А и уликсертина в клетках НМС1.2



Фиг. 8A

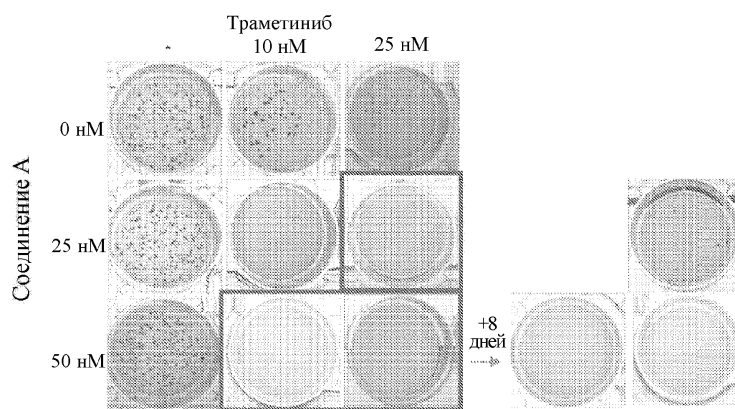
CI	Соединение А 1 нМ	Соединение А 5 нМ	Соединение А 10 нМ	Соединение А 25 нМ	Соединение А 50 нМ	Соединение А 100 нМ	Соединение А 250 нМ	Соединение А 500 нМ
Улисертиниб 50 нМ	1,60258	2,92097	2,92056	2,33011	3,16429	3,40419	0,95172	0,0969
Улисертиниб 100 нМ	2,34725	1,48965	1,55963	2,64283	2,89453	2,47874	0,83763	0,0861
Улисертиниб 250 нМ	2,52682	1,04818	1,63023	1,59316	3,17247	2,16888	0,71586	0,03154
Улисертиниб 500 нМ	0,5764	0,68476	1,29507	1,07784	1,14575	0,51154	0,12022	0,00349
Улисертиниб 1000 нМ	0,25087	0,36296	0,45054	0,83564	0,31409	0,5004	0,065	2,04E-04
Улисертиниб 2000 нМ	0,34059	0,33951	0,63595	0,77262	0,96933	0,75802	0,15375	7,35E-04
Улисертиниб 5000 нМ	2,6495	5,10326	2,44488	2,61636	3,22495	2,41533	1,00502	0,03806

Фиг. 8В

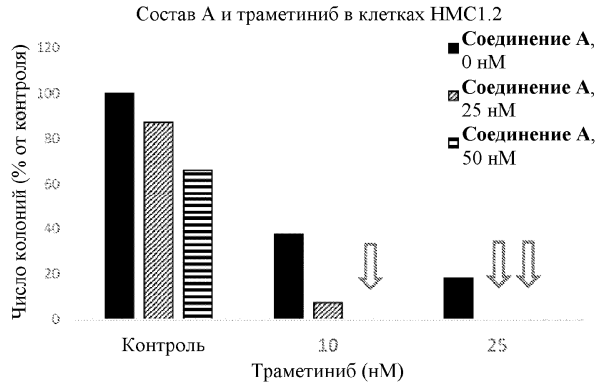


Фиг. 8С

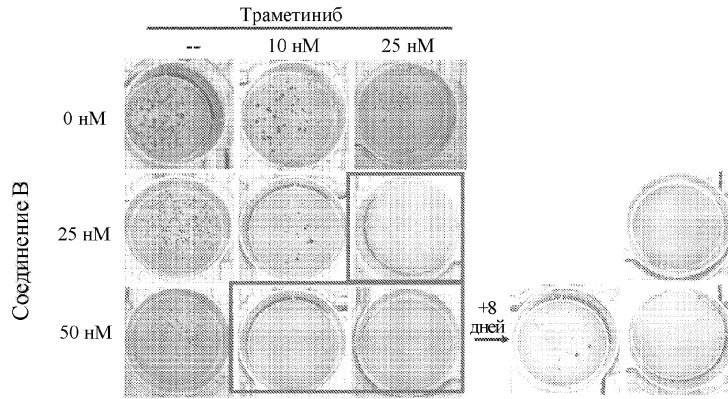
Клетки НМС1.2



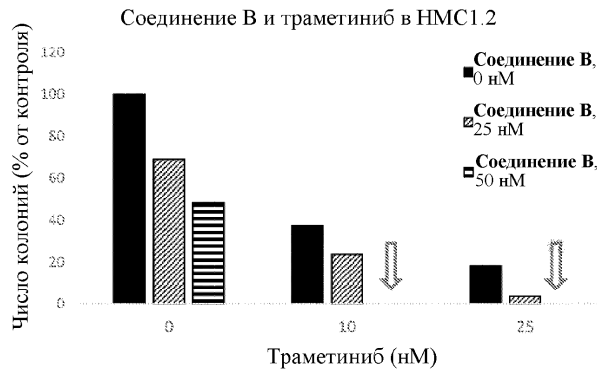
Фиг. 9А



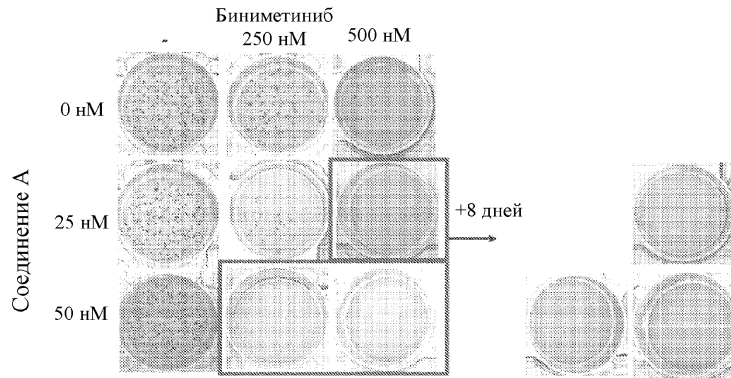
Фиг. 9В



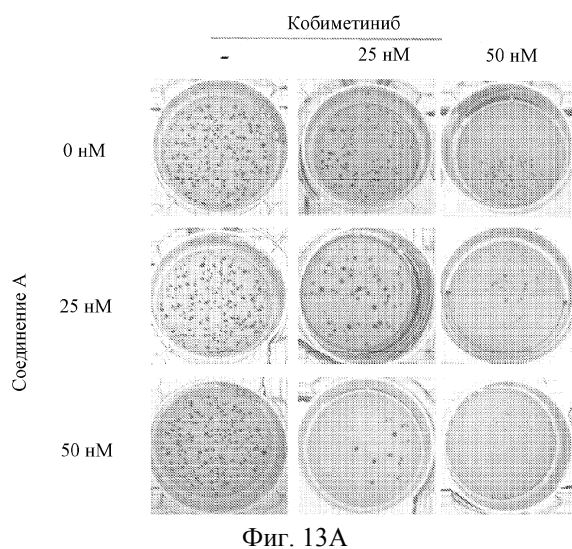
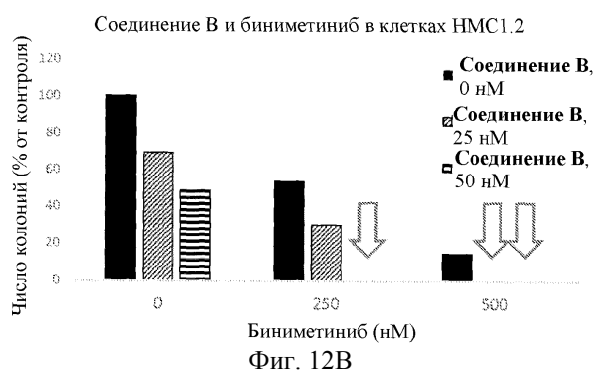
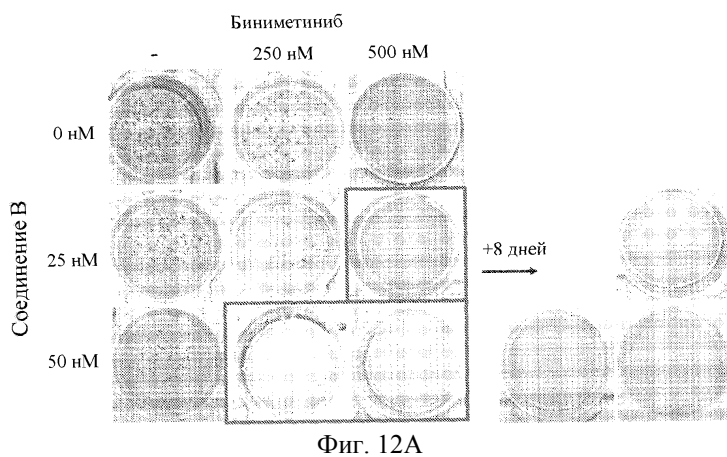
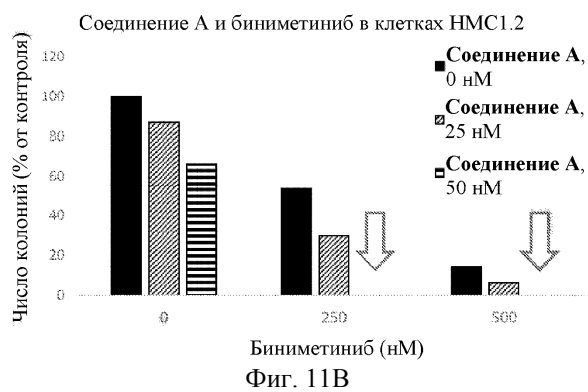
Фиг. 10А

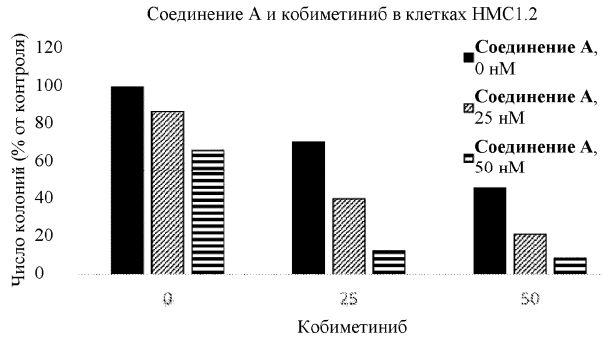


Фиг. 10В

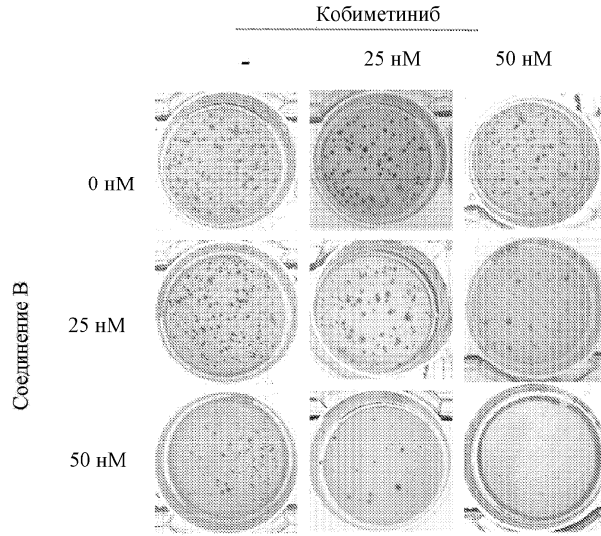


Фиг. 11А

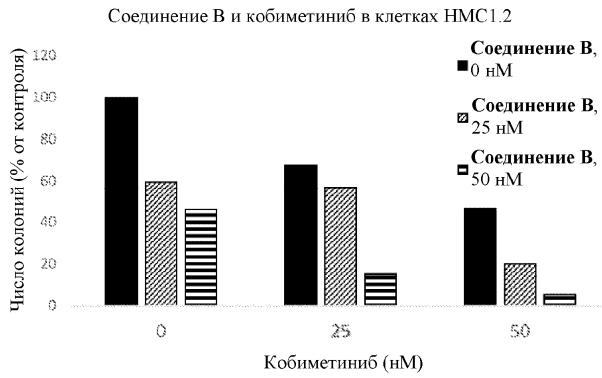




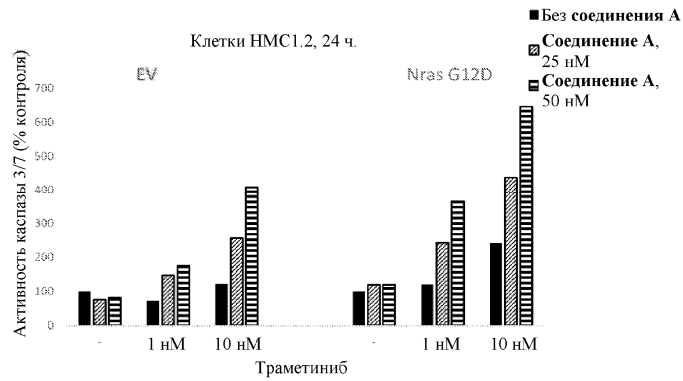
Фиг. 13В



Фиг. 14А

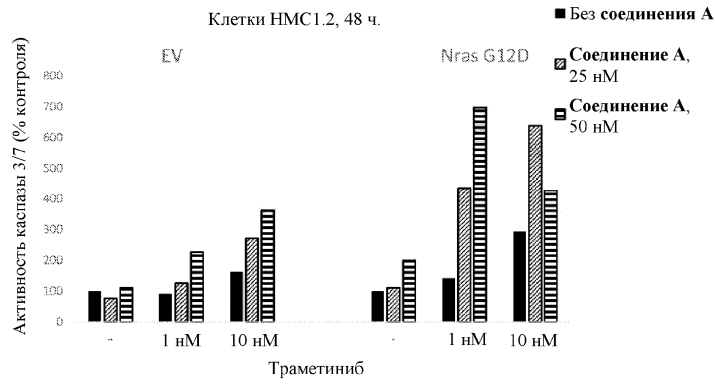


Фиг. 14В

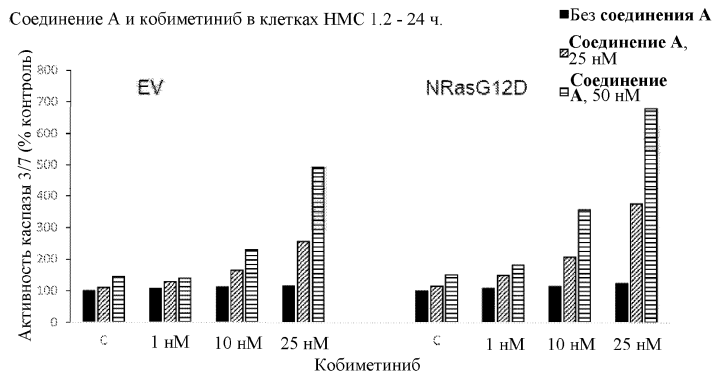


Фиг. 15А

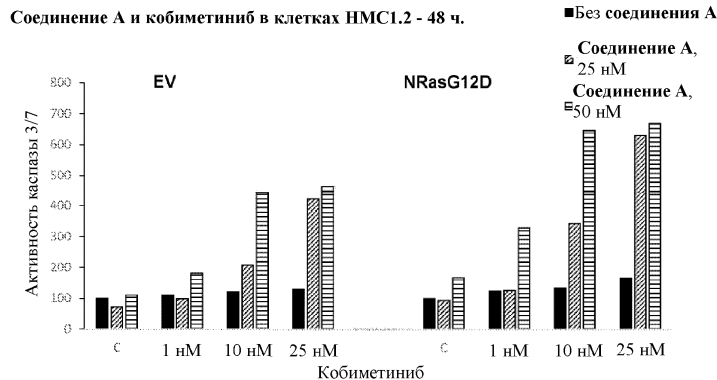




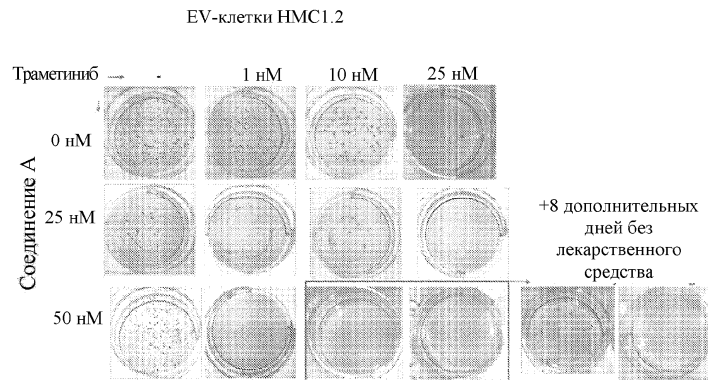
Фиг. 15В



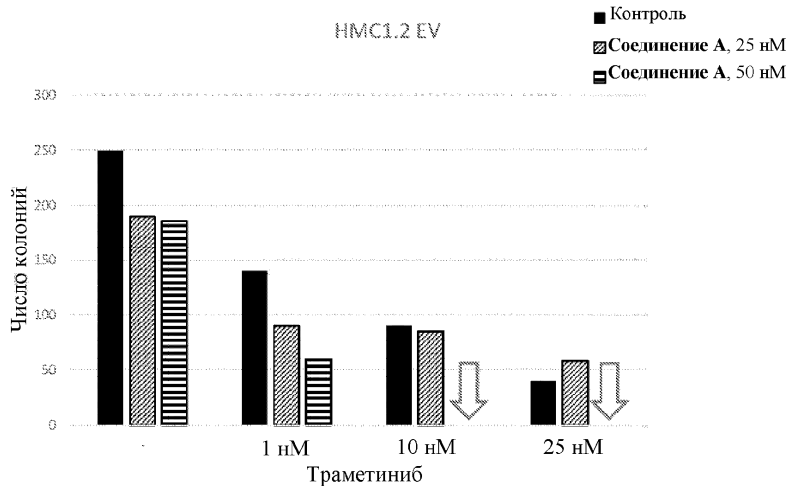
Фиг. 16А



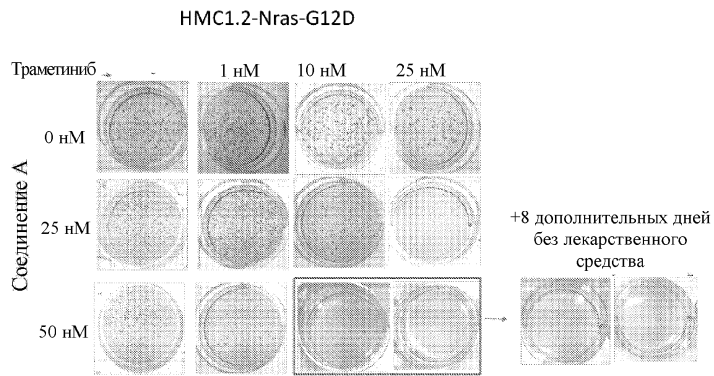
Фиг. 16В



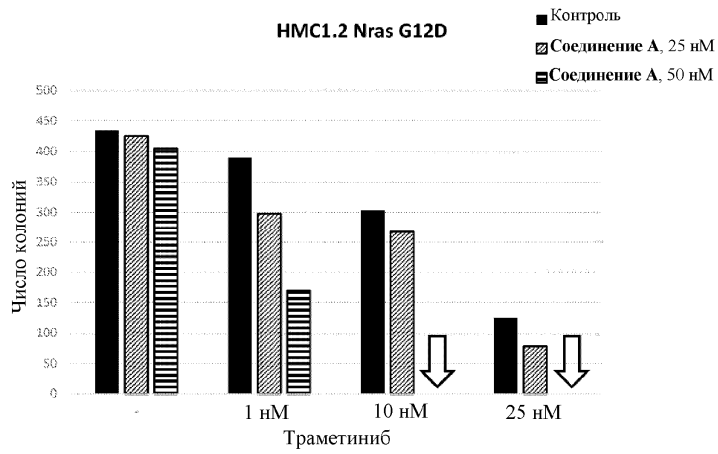
Фиг. 17А



Фиг. 17В

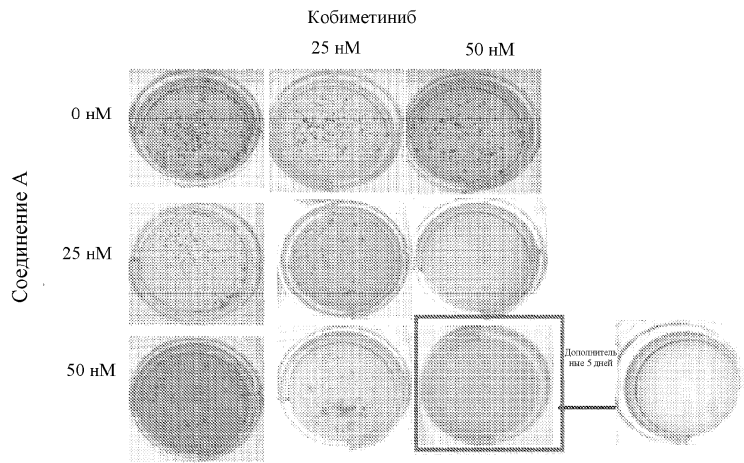


Фиг. 17С

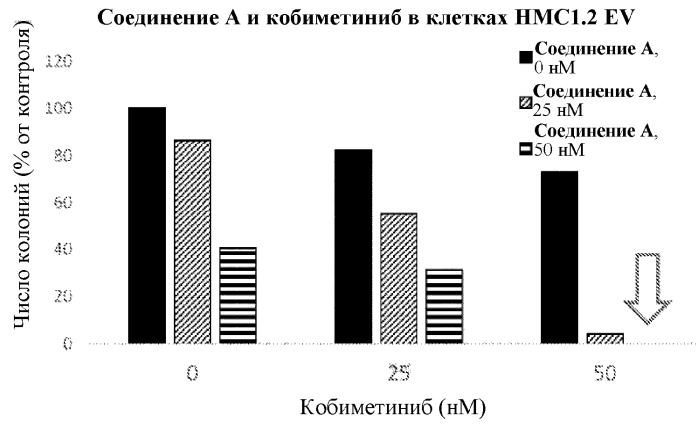


Фиг. 17Д

Клетки HMC1.2 EV

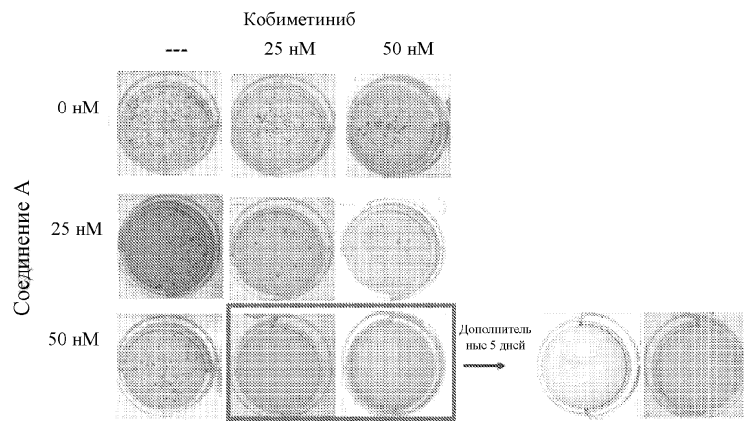


Фиг. 18А



Фиг. 18В

HMC1.2 N-Ras G12D



Фиг. 18С

## Соединение А и кобиметиниб в клетках HMC1.2-NRas G12D

