

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202490631 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.04.17

(22) Дата подачи заявки
2022.09.01

(51) Int. Cl. *A61K 31/505* (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)
A61K 47/00 (2006.01)
A61K 9/28 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01)

(54) LOU064 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

(31) 63/240,444; 63/282,363; 63/304,106;
63/353,866; 63/369,008

(32) 2021.09.03; 2021.11.23; 2022.01.28;
2022.06.21; 2022.07.21

(33) US

(86) PCT/IB2022/058205

(87) WO 2023/031840 2023.03.09

(71) Заявитель:
НОВАРТИС АГ (CH)

(72) Изобретатель:

Бхаттачария Сувик (US), Бит Бруно,
Ченни Бруно, Энд Петер, Грэхэм
Гордон, Юнке Михаэль, Каран
Раджеш Сингх (CH), Манн Эллисон
Донна (US), Пижоле Этьен, Рапп
Карин, Син Ким-Хиен, Юй Хойсинь
(CH), Чжан Ин (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к LOU064 или его фармацевтически приемлемой соли для применения в эффективном лечении рассеянного склероза (MS).

202490631
A1

202490631

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-580641EA/022

LOU064 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к LOU064 или его фармацевтически приемлемой соли для применения в эффективном лечении рассеянного склероза (MS).

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Рассеянный склероз (MS) представляет собой хроническое, иммуноопосредованное заболевание центральной нервной системы, характеризующееся воспалением, демиелинизацией и разрушением аксонов/нейронов, что в конечном итоге приводит к тяжелой степени инвалидизации. Хотя лекарства от этого заболевания не существует, доступны различные средства терапии, модифицирующие течение заболевания (DMT), которые обычно замедляют прогрессирование заболевания.

Хотя большинство средств терапии, модифицирующих течение заболевания, против MS традиционно рассматривались как действующие посредством механизмов на основе Т-клеток, все больше данных указывает на то, что эти DMT также характеризуются явными эффектами в отношении В-клеток. Общие характерные особенности включают стимулирование в большей мере наивных В-клеток, а не клеток памяти или плазмобластов (алемтузумаб); смещение В-клеточных цитокинов в сторону противовоспалительного характера (бета-интерферон, глатирамера ацетат, финголимод); увеличение количества В-reg (бета-интерферон, глатирамера ацетат, финголимод и диметилфумарат); снижение экспрессии МНС класса II и костимулирующих молекул на В-клетках, необходимых для презентации антигена (бета-интерферон и диметилфумарат); удержание В-клеток в лимфоидных органах (финголимод); блокирование опосредованного VLA-4 транспорта В-клеток в ЦНС (натализумаб) или непосредственный цитолиз В-клеток (алемтузумаб, терифлуномид, митоксантрон), см. Greenfield et al., *Ann. Neurol.*, январь 2018 г.; 83(1): 13-26.

Хотя эти DMT обычно значительно снижают частоту рецидивов и активность заболевания по данным МРТ и таким образом отсрочивают время до ухудшения в отношении инвалидизации, как правило, с каждым из этих DMT могут ассоциироваться (тяжелые) нежелательные явления. Например, натализумаб может привести к повышению риска смертельной оппортунистической инфекции (т. е. прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатии или PML), в то время как некоторые DMT для перорального применения могут быть ассоциированы с рисками безопасности, связанными с S1P, например брадиаритмиями, возникающими после начала лечения, макулярным отеком, артериальной гипертензией и повышением активности печеночных трансаминаз.

Другим вариантом лечения пациентов с MS является неспецифическое истощение по В-клеткам путем введения моноклональных антител, нацеленных на В-клетки, экспрессирующие CD20, таких как офатумумаб, окрелизумаб, ритуксимаб, обинутузумаб

и улигуксимаб, см. Torke, S. and Weber, M.S. (2020), *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 29:10, 1143-1150.

Однако долгосрочные испытания показали, что при увеличении пожизненной дозы средств, обеспечивающих истощение по В-клеткам, могут нарушаться ключевые функции иммунной системы.

Тем не менее, в свете долгосрочных эффектов вариантов длительной иммуносупрессивной терапии, таких как нарушение нормального функционирования гуморальной системы, необходимы устойчивые и гибкие подходы для контроля патогенных В-клеток, вызывающих MS, в частности, предоставляющие врачам гибкость в выборе схемы лечения.

Недавно терапевтическое ингибирование тирозинкиназы Брутона (ВТК) было предложено в качестве новой стратегии достижения этой цели.

ВТК представляет собой фермент, играющий центральную роль в передаче сигналов В-клеточного рецептора (BCR) и необходимый для нормального созревания В-клеток. Хотя основная роль ВТК описана как опосредование передачи сигналов BCR, с тех пор было показано, что она участвует в других путях, таких как передача сигналов Fc-рецептора (FcR) и toll-подобного рецептора (TLR), а также в продуцировании активных форм кислорода (ROS). ВТК принадлежит к семейству киназ TEC (тирозинкиназа, экспрессируемая при гепатоцеллюлярной карциноме). Экспрессия представителей семейства киназ TEC в основном ограничивается кроветворной системой.

ВТК необходима для нормального развития и созревания В-клеток. Отсутствие ВТК, например, у пациентов с X-сцепленной агаммаглобулинемией (XLA), указывает на почти полное отсутствие периферических В- и плазматических клеток, что приводит к очень низким уровням циркулирующих иммуноглобулинов. Напротив, у мышей *xid* наблюдается специфическая остановка созревания периферических В-клеток, тогда как количество пре-В-клеток, образуемых в костном мозге (BM), является нормальным. ВТК имеет решающее значение для развития пре-В-клеток, контролируя управляемое IL-7 размножение крупных проходящих цикл развития пре-В-клеток, а также способствуя их развитию в мелкие покоящиеся пре-В-клетки. В дальнейшем ВТК контролирует экспрессию первых цепей иммуноглобулина, а также проникновение В-клеток в фолликулярные структуры. Наконец, ВТК участвует в BCR-опосредованной активации В-клеток и их окончательной, терминальной дифференцировке в клетки памяти или плазматические клетки.

Таким образом, без ограничения какой-либо теорией, ингибиторы ВТК, которые блокируют критически важный фермент, участвующий в созревании В-клеток, будут ингибировать патогенные В-клетки при таких заболеваниях, как MS.

На сегодняшний день разработано и испытано несколько ингибиторов ВТК для лечения ряда заболеваний. Таким образом, ибрутиниб (Imbruvica) одобрен для лечения хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), макроглобулинемии Вальденстрема и является средством лечения второй линии при лимфоме из клеток мантии (MCL),

лимфомы из клеток маргинальной зоны и хронической реакции "трансплантат против хозяина". Для лечения MCL также одобрены акалабрутиниб (Calquence) и занубрутиниб (Brukinsa). Акалабрутиниб и занубрутиниб, а также новые соединения ONO-4059 (тирабрутиниб), NM71224 (поселтиниб) и ABBV-105 (упадацитиниб) в настоящее время проходят испытания на их эффективность при В-клеточных злокачественных новообразованиях и/или аутоиммунных заболеваниях, таких как ревматоидный артрит (RA), синдром Шегрена (SjS) и системная красная волчанка (SLE).

На сегодняшний день ингибиторы ВТК эвобрутиниб, толебрутиниб и фенебрутиниб вступили в фазу III исследований на пациентах с MS, орелабрутиниб проходит тестирование в фазе II исследования, а ВПВ091 проходил тестирование в фазе I исследования на эффективность при лечении MS.

Эвобрутиниб и толебрутиниб классифицируются как ковалентные необратимые ингибиторы ВТК, тогда как механизм ВТКi-связывания фенебрутиниба описывается как нековалентный обратимый.

Толлебрутиниб привел к снижению развития очагов поражения MS в промежуточных испытаниях, при этом наиболее частыми нежелательными явлениями были головные боли и симптомы, напоминающие простуду (Dolgin, E. ВТК blockers make headway in multiple sclerosis. *Nat. Biotechnol.* 39, 3-5 (2021)).

Эвобрутиниб был протестирован в моделях на животных, а также в клинических испытаниях при RA, SLE и в исследовании фазы II безопасности и эффективности при RRMS.

При экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите (EAE), представляющем собой модель MS на животных, эвобрутиниб был эффективен в дозе 3 мг/кг, тогда как доза 10 мг/кг не приводила к дальнейшему улучшению эффекта, подтверждая идею полного ингибирования ВТК при 3 мг/кг (Torke, S. et al., Inhibition of Bruton's tyrosine kinase interferes with pathogenic B-cell development in inflammatory CNS demyelinating disease, *Acta Neuropathol.* 140, 535-548 (2020)).

В испытаниях фазы II для эвобрутиниба в качестве монотерапии при RRMS (рецидивирующе-ремиттирующий рассеянный склероз) и активного вторично-прогрессирующего MS 3 дозы эвобрутиниба (25 мг один раз в день, 75 мг один раз в день или 75 мг два раза в день) сравнивали с плацебо или диметилфумаратом (DMF). У пациентов с рецидивирующим MS, получавших более высокие дозы эвобрутиниба, составляющие 75 мг один или два раза в день, наблюдалась тенденция к развитию меньшего количества очагов поражения головного мозга и возникновению меньшего количества рецидивов по сравнению с теми, кто получал плацебо или диметилфумарат. Однако помимо назофарингита, более высокие дозы эвобрутиниба, составляющие 75 мг один раз в день и два раза в день, были ассоциированы с более высокой частотой эпизодов повышения уровня аланинаминотрансферазы (ALT), аспартатаминотрансферазы (AST) и липазы, что поднимало вопросы безопасности (Montalban X. et al., 2019, *N Engl J Med*; 380(25): 2406-17).

В настоящее время продолжается испытание фазы III по оценке эффективности и безопасности эвобрутиниба, вводимого перорально два раза в день, по сравнению с терифлуномидом, вводимым перорально один раз в день, у участников с рецидивирующим рассеянным склерозом (RMS).

Учитывая потенциальные нежелательные явления для этих ингибиторов ВТК и не полностью установленную эффективность, существует потребность в улучшенных ингибиторах ВТК, которые будут эффективными и безопасными, особенно при долгосрочном лечении MS.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

Фигура 1

Эффект профилактического применения LOU064 (3 мг/кг р.о. b.i.d. и 30 мг/кг р.о. b.i.d.) в отношении суточной неврологической симптоматики во время HumanMOG EAE. Суточное изменение веса тела (A) значительно улучшалось при приеме LOU064 в дозе 30 мг/кг р.о. b.i.d., свидетельствуя об уменьшении кахексии, индуцированной воспалением. С данными по весу тела согласовалось улучшение показателей EAE при приеме LOU064 в дозе 30 мг/кг р.о. b.i.d. (B). Размеры групп составляли n=8-10 на обработку. Статистическую значимость определяли с использованием теста Краскела-Уоллиса с критерием Данна (непараметрический дисперсионный анализ).

Фигура 2

Профилактическое применение LOU064 в дозе 30 мг/кг (b.i.d.) значительно снижало заболеваемость во время HumanMOG EAE. Обработка с помощью LOU064 b.i.d. снижала частоту и скорость проявления EAE. Размеры групп составляли n=10 на обработку. Статистическую значимость определяли с использованием непараметрического критерия Каплана-Мейера.

Фигура 3

Профилактическое применение LOU064 дозозависимым образом снижало бремя заболевания во время HumanMOG EAE. Обработка с помощью LOU064 в дозе 30 мг/кг b.i.d. значительно снижала пиковый балл EAE (A) и совокупное бремя заболевания (B). Размеры групп составляли n=10 на обработку. Статистическую значимость определяли с использованием теста Краскела-Уоллиса с критерием Данна (непараметрический дисперсионный анализ).

Фигура 4

Занятость ВТК в селезенке через 1, 5 и 8 часов после приема последней дозы при пероральном введении LOU064 b.i.d. Показаны уровни занятости у отдельных животных. Средние значения для групп показаны в виде центральных полос, а стандартные отклонения показаны в виде полос погрешностей типа "усы". Статистическая значимость (дисперсионный анализ с последующим критерием Даннетта) показана как **** для $p < 0,0001$. Один выброс в группе среды-носителя удалили после проведения теста Граббса (со степенью занятости ВТК -112%).

Фигура 5

Занятость ВТК в лимфатических узлах через 1, 5 и 8 часов после приема последней дозы при пероральном введении LOU064 b.i.d. Показаны уровни занятости у отдельных животных. Средние значения для групп показаны в виде центральных полос, а стандартные отклонения показаны в виде полос погрешностей типа "усы". Статистическая значимость (дисперсионный анализ с последующим критерием Даннетта) показана как **** для $p < 0,0001$.

Фигура 6

Занятость ВТК в гомогенате головного мозга через 1, 5 и 8 часов после приема последней дозы при пероральном введении LOU064 b.i.d. Показаны уровни занятости у отдельных животных. Средние значения для групп показаны в виде центральных полос, а стандартные отклонения показаны в виде полос погрешностей типа "усы". Статистическая значимость (дисперсионный анализ с последующим критерием Даннетта) показана как ** для $p < 0,01$.

Фигура 7

Профилактическая обработка с помощью LOU064 (b.i.d.) во время HumanMOG EAE лишь слабо модулирует MOG-специфические иммуноглобулиновые ответы. Пероральная обработка с помощью LOU064 b.i.d. значительно снижала MOG-специфические ответы в виде IgM и IgG в сыворотке крови; однако эффект был очень слабым (A, B). Анализ подклассов показал снижение IgG1 (C), IgG2a (D) и IgG2b (E). Никаких изменений не было обнаружено в отношении IgG2c (F). Размеры групп составляли $n=8-10$ на обработку. Статистическая значимость (дисперсионный анализ с критерием Даннетта) показана как * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Фигура 8

Профилактическая обработка с помощью LOU064 (b.i.d.) во время HumanMOG EAE обеспечивает улучшение в отношении индуцированной воспалением кахексии. В фазе пре-EAE данной модели не наблюдалось никаких неврологических симптомов. (A). Пероральная обработка с помощью LOU064 b.i.d. (30 мг/кг два раза в день) улучшала набор веса у иммунизированных мышей, свидетельствуя о том, что индуцированная воспалением кахексия уменьшалась (B). Размеры групп составляли $n=5$ на обработку.

Фигура 9

Профилактическая обработка с помощью LOU064 (b.i.d.) во время HumanMOG EAE подавляет пролиферацию в ходе вторичного иммунного ответа на (ауто)антиген. Выделенные спленциты и клетки дренирующих лимфатических узлов инкубировали *in vitro* с HumanMOG в течение 48 часов. Антигенспецифическую пролиферацию определяли по включению [³H]-тимидина. Животные, которым *in vivo* вводили дозы LOU064, продемонстрировали дозозависимое снижение MOG-специфической пролиферации (A, B) Поликлональная стимуляция с помощью антитела к CD3/CD28 не приводила к изменениям (C). Размеры групп составляли $n=5$ на обработку.

Фигура 10

Профилактическая обработка с помощью LOU064 (b.i.d.) во время HumanMOG

ЕАЕ снижает количество клеток Th17. У мышей, которых иммунизировали с помощью HumanMOG и которым вводили дозы LOU064 *in vivo* b.i.d., не было продемонстрировано значимых изменений в количественном составе популяций В-клеток (А, В). Общая популяция CD4⁺ Т-клеток не изменялась (С); однако окрашивание внутриклеточных цитокинов выявило значительное снижение количества клеток Th17 (IL-17⁺) (D). Никаких изменений в Th1 или Treg (E, F) не наблюдалось. Размеры групп составляли n=5 на обработку. Статистическая значимость (дисперсионный анализ с критерием Даннетта) показана как ** для p < 0,05.

Фигура 11

Профилактическое введение ингибиторов ВТК b.i.d. во время RatMOG ЕАЕ не продемонстрировало нежелательных явлений. Ежедневное введение b.i.d. ингибиторов ВТК (LOU064, ибрутиниб) не вызывало неврологических симптомов (А) или ухудшения в отношении изменений веса (В). Циклоспорин А (CsA) ассоциировался с выраженной потерей веса. Размеры групп составляли n=4-5 на обработку.

Фигура 12

Профилактическое введение ингибиторов ВТК b.i.d. во время RatMOG ЕАЕ не обеспечивало подавления пролиферации в ходе вторичного иммунного ответа на (ауто)антиген. Выделенные клетки дренирующих лимфатических узлов инкубировали *in vitro* с RatMOG в течение 48 часов. Антигенспецифическую пролиферацию определяли по включению [³H]-тимидина. Животным вводили *in vivo* ингибиторы ВТК (LOU064, ибрутиниб или циклоспорин А (CsA)) в течение 8 дней. Размеры групп составляли n=4-5 на обработку.

Фигура 13

LOU064 снижал патологические изменения при RatMOG ЕАЕ. Суточные изменения веса тела (А) значительно снижались при приеме LOU064 в дозе 30 мг/кг p.o. b.i.d., свидетельствуя об уменьшении кахексии, индуцированной воспалением. С данными по весу тела согласовалось улучшение показателей ЕАЕ (В). Размеры групп составляли n=10 на обработку. Статистическую значимость определяли с использованием теста Краскела-Уоллиса с критерием Данна (непараметрический дисперсионный анализ).

Фигура 14

LOU064 значительно снижал заболеваемость во время RatMOG ЕАЕ. Обработка с помощью LOU064 в дозе 30 мг/кг b.i.d. снижала частоту и время проявления ЕАЕ (клинический показатель ≥ 1). Размеры групп составляли n=10 на обработку. Статистическую значимость определяли с использованием непараметрического критерия Каплана-Мейера.

Фигура 15

LOU064 снижал бремя заболевания во время RatMOG ЕАЕ. Обработка с помощью LOU064 в дозе 30 мг/кг b.i.d. значительно снижала пиковый балл ЕАЕ (А) и совокупное бремя заболевания (В). Размеры групп составляли n=10 на обработку. Статистическую значимость определяли с использованием теста Краскела-Уоллиса с критерием Данна

(непараметрический дисперсионный анализ).

Фигура 16

Остаточная занятость ВТК в селезенке, крови и головном мозге. Остаточная занятость ВТК в селезенке и крови указывает на максимальную занятость мишени на пике. Занятость ВТК, оцененная в гомогенатах головного мозга; показаны промежуточные уровни в селезенке (А), крови (В) и головном мозге (С), что позволяет предположить, что значительная, но субмаксимальная занятость ВТК в головном мозге достигалась на пике. Статистическую значимость определяли с использованием двустороннего непарного t-критерия с поправкой Уэлча.

Фигура 17

LOU064 не модулировал MOG-специфических иммуноглобулиновых ответов во время RatMOG EAE. Пероральная обработка с помощью LOU064 b.i.d. не влияла на MOG-специфические ответы в виде IgM (А) и IgG (В) в сыворотке крови по сравнению со средой-носителем. Анализ подклассов выявил, что IgG1 (С), IgG2a (D) и IgG2b (Е), IgG2c (F) и IgG3 (G) не подвергались модулированию. Размеры групп составляли n=4-5 на обработку; р-значения определены при сравнении мышей, не подвергавшихся воздействию, и мышей, обработанных с помощью среды-носителя. Статистическую значимость анализировали с использованием дисперсионного анализа (с последующим критерием Даннетта).

Фигура 18

Концентрация NF-L в сыворотке крови немного снижается при обработке с помощью LOU064 (фигура 18А) и коррелирует с клиническими показателями EAE (фигура 18В). Пероральная обработка с помощью LOU064 b.i.d. слегка снижала средний уровень NF-L в сыворотке крови по сравнению с группой, обработанной с помощью среды-носителя. Уровни NF-L в сыворотке крови коррелировали с клиническими показателями, наблюдаемыми при завершении лечения. UDL=верхний предел обнаружения; LDL=нижний предел обнаружения. Статистическую разницу определяли с помощью теста на основе простой линейной регрессии.

Фигура 19

ВТК экспрессируется в лимфатических узлах, а не в головном мозге мышей, не подвергавшихся воздействию. Гистологическое исследование лимфатических узлов и головного мозга мышей, не подвергавшихся воздействию, показывает экспрессию ВТК в лимфатических узлах (А), диссеминированную в паракортикальной области и, в частности, в фолликулах В-клеток (В). Экспрессия ВТК не была обнаружена в головном мозге (С) и мозолистом теле (D). ИНС-окрашивание ВТК гематоксилином и контрастное окрашивание с подсиниванием.

Фигура 20

Предпочтительное распределение частиц по размеру для LOU064 нанометрового размера.

Фигура 21

(А) Остаточная занятость ВТК по прошествии 24 часов в равновесном состоянии. На графике предсказанное медианное значение показано в виде точки, а вертикальные линии показывают 95% предсказательный интервал. (В) Среднее значение занятости ВТК по прошествии 24 часов в равновесном состоянии. На графике предсказанное медианное значение показано в виде точки, а вертикальные линии показывают 95% предсказательный интервал.

Фигура 22

Моделирование занятости ВТК в селезенке в равновесном состоянии.

Фигура 23

Анализ последовательностей scRNA мышей с RatMOG EAE, обработанных с помощью LOU064: сигнатура нейровоспаления значительно уменьшается в микроглии головного и спинного мозга мышей с EAE, обработанных с помощью LOU06.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Проблема, лежащая в основе настоящего изобретения, заключается в обеспечении улучшенных стратегий лечения пациентов с MS, особенно для методов долгосрочного лечения. В частности, целью настоящего изобретения является обеспечение преимущественного средства терапии MS, предпочтительно высокоэффективного средства терапии MS.

Другая цель состоит в том, чтобы обеспечить средство терапии MS, которое было бы таким же эффективным, как и средство терапии, обеспечивающее истощение по В-клеткам, в частности, таким же эффективным, как и средство терапии, обеспечивающее истощение по CD19 и/или CD20.

Другой целью является обеспечение средства терапии MS, которое было бы таким же эффективным, как и средство терапии, обеспечивающее истощение по В-клеткам, без нежелательного влияния на уровни иммуноглобулинов в сыворотке крови.

Еще одной целью является обеспечение средства терапии MS, которое было бы эффективным в снижении годичной частоты рецидивов, в частности, таким же эффективным в снижении годичной частоты рецидивов, как и средство терапии, обеспечивающее истощение по В-клеткам.

Еще одной целью является обеспечение средства терапии MS, которое могло бы отсрочить ухудшение в отношении инвалидизации.

Другой целью является обеспечение улучшенного средства терапии MS, в частности, демонстрирующего улучшенный профиль безопасности и переносимости по сравнению с другими одобренными средствами терапии, модифицирующими заболевание, для перорального применения и средством терапии, обеспечивающим истощение по В-клеткам, в частности, по сравнению со средством терапии, обеспечивающим истощение по CD19/CD20.

Проблема неожиданно была решена введением LOU064 или его фармацевтически приемлемой соли.

LOU064 (= N-(3-(6-амино-5-(2-(N-метилакриламидо)этокси)пиримидин-4-ил)-5-

фтор-2-метилфенил)-4-циклопропил-2-фторбензамид, INN: ремибрутиниб) раскрыт в WO 2015/079417 A1 как кандидат на лекарственное средство для селективного ингибирования тирозинкиназы Брутона. Это соединение является мощным, высокоселективным, необратимым ковалентным ингибитором ВТК. Благодаря связыванию с неактивной конформацией ВТК LOU064 демонстрирует исключительную селективность к киназе и, таким образом, снижает нецелевое связывание киназ, а благодаря ковалентному ингибированию соединение проявляет мощный и устойчивый фармакодинамический эффект без необходимости обеспечения длительного и высокого системного воздействия соединения (Angst, D. et al., Discovery of LOU064 (Remibrutinib), a Potent and Highly Selective Covalent Inhibitor of Bruton's Tyrosine Kinase, J Med Chem., 28 мая 2020 г.; 63(10):5102-5118).

LOU064, который ранее предлагался для применения в лечении хронической спонтанной крапивницы (CSU) (WO2020/234782 A1) и синдрома Шегрена (SjS) (WO2020/234781 A1), в настоящее время проходит испытания в фазе II клинических исследований в отношении CSU и SjS.

В WO2020/234782 A1 в целом предполагалось, что введение в дозах 10 мг, 25 мг и 100 мг b.i.d. позволяет достичь максимальной эффективности при CSU.

В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом испытании фазы 2b, оценивающем эффективность и безопасность LOU064 в течение 12 недель у пациентов, характеризующихся недостаточным контролем с помощью H₁-антигистаминных препаратов с по меньшей мере умеренно активной CSU, пациенты получали LOU064 в дозе 10 мг q.d. (один раз в день), 35 мг q.d., 100 мг q.d., 10 мг b.i.d. (два раза в день), 25 мг b.i.d., 100 мг b.i.d. или плацебо (в соотношении 1:1:1:1:1:1). Схема 25 мг b.i.d. оказалась особенно эффективной по сравнению с другими дозами.

Следовательно, доза 25 мг b.i.d. была выбрана для последующего клинического исследования фазы III для CSU.

Сообщалось, что занятость ВТК в крови и/или тканях является подходящим биомаркером при выборе доз для клинических исследований, таких как исследования CSU и SjS (WO2020/234782 и WO2020/234781).

Кроме того, сообщалось, что занятость ВТК и продолжительность занятости ВТК отличаются в крови и в различных тканях у самок крыс (WO2020/234781).

В доклинических исследованиях по оценке занятости ВТК с применением LOU064 уже однократная пероральная доза LOU064, составляющая 3 мг/кг, приводила к полной занятости ВТК в крови и селезенке самок крыс. При определении продолжительности занятости ВТК у крыс после однократной пероральной дозы LOU064 половинное время занятости ВТК составило ~87 часов в крови и только ~ 5 часов в селезенке. Без ограничения какой-либо теорией, было высказано предположение, что более длительная продолжительность занятости ВТК в крови может отражать то, что клетки, экспрессирующие ВТК, в периферической крови находятся в состоянии покоя и метаболически относительно неактивны по сравнению с такими тканями, как селезенка,

лимфатические узлы и легкие.

Занятость ВТК в различных тканях влияет на эффективность и выбор оптимальной дозировки при различных проявлениях. Однако в настоящее время не существует согласованной полной картины всех тканей, которые имеют отношение к проявлению рассеянного склероза, и, следовательно, того, проникновение в какую(-ие) ткань(-и) необходимо обеспечить для лечения MS. Как было показано на крысах, занятость ВТК и половинное время занятости ВТК отличаются в крови и в различных тканях.

Половинное время занятости ВТК зависит от скорости обмена (способности клеток с ВТК регенерировать). Такие скорости обмена различаются в каждой ткани и являются специфическими для каждого вида. Занятость ВТК дополнительно зависит от РК/PD-свойств соединения, которые также зависят от вида.

Было обнаружено, что занятость ВТК в крови может не полностью коррелировать с проявлением MS.

Занятость ВТК в других тканях, таких как селезенка, лимфатические узлы и легкое, может в большей степени коррелировать с эффективностью при проявлении MS, чем занятость ВТК в крови. Кроме того, занятость ВТК в головном мозге может быть еще одним важным фактором эффективности лечения MS.

Занятость ВТК в головном мозге зависит от нескольких факторов. Некоторые факторы зависят от конкретного соединения. Например, одним из факторов является проницаемость гематоэнцефалического барьера для соединения, его аффинность к транспортеру, представляющему собой Р-гликопротеин, который контролирует степень эффлюкса соединения из мозга.

Другим фактором является неопределенность относительно экспрессии ВТК в головном мозге, поскольку в головном мозге мышей, не подвергавшихся воздействию, в частности в мозолистом теле, ВТК обнаружить не удалось (фигура 19).

Таким образом, имеет место высокий уровень непредсказуемости при определении эффективной дозы ингибитора ВТК для лечения MS.

Чтобы оценить эффективность LOU064 *in vivo*, соединение тестировали на модели экспериментального аутоиммунного энцефалита (ЕАЕ) у мышей. При дозе LOU064, составляющей 3 мг/кг b.i.d., полная занятость ВТК в селезенке и лимфатических узлах наблюдалась через 1 ч после введения дозы (фигуры 4 и 5). Однако эта доза LOU064, составляющая 3 мг/кг b.i.d., приводила лишь к довольно слабому уменьшению неврологических симптомов, а также потери веса, вызванной ЕАЕ (фигура 1), даже несмотря на то, что при этой дозе была достигнута полная занятость ВТК в селезенке и лимфатических узлах.

По этой причине занятость ВТК также оценивали в гомогенатах головного мозга, которые были подготовлены для анализа величины воздействия соединения (фигура 6). В отличие от того, что наблюдалось в селезенке и лимфатических узлах, доза 3 мг/кг неожиданно приводила лишь к минимальной занятости ВТК в гомогенатах головного мозга в момент времени 1 час. Однако, что еще более удивительно, для группы,

получавшей дозу LOU064, составляющую 30 мг/кг b.i.d., была показана максимальная занятость ВТК.

Учитывая, что для полной занятости ВТК в головном мозге требуется более высокая доза (30 мг/кг b.i.d.), в соответствии с данным изобретением было обнаружено, что LOU064 в дозе 30 мг/кг b.i.d. сильно уменьшал неврологические симптомы, а также вызванную ЕАЕ потерю веса у мышей.

Кроме того, занятость ВТК в селезенке, определенная через 1, 5 и 8 часов после перорального введения дозы LOU064 b.i.d. (фигура 4), также демонстрирует более устойчивую занятость после дозы 30.мг/кг

Без ограничения какой-либо теорией был сделан вывод, что занятость ВТК в головном мозге может быть более важной для лечения MS. Это было совершенно неожиданно, поскольку в мозге мышей, не подвергавшихся воздействию, в частности в мозолистом теле, ВТК обнаружить не удалось (фигура 19).

На основе модели пересчета между животными и человеком (*Journal of basic and clinical pharmacy*, 7(2), 27-31) рассчитанная эквивалентная доза для человека (HED) в случае 30 мг/кг b.i.d. соответствует ~ 170 мг для человека массой 70 кг (Nair, A. B., & Jacob, S. (2016).

Наконец, согласно модели предсказания занятости ВТК у человека было показано, что введение b.i.d. является более эффективным, чем введение QD при той же дозе для достижения более высокой занятости ВТК (фигура 21). Соответственно, для клинических исследований была выбрана доза LOU064, составляющая 100 мг b.i.d.

Особенно удивительно, что LOU064 демонстрирует превосходную эффективность и безопасность при лечении рассеянного склероза уже при пероральном введении в дозе 100 мг два раза в день.

Следовательно, объект настоящего изобретения относится к LOU064 или его фармацевтически приемлемой соли для применения в лечении рассеянного склероза.

В целом настоящее изобретение касается лечения рассеянного склероза. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения LOU064 вводят для лечения рецидивирующих форм рассеянного склероза (RMS), включая рецидивирующе-ремиттирующий рассеянный склероз (RRMS), вторично-прогрессирующий рассеянный склероз (SPMS), в частности активный SPMS, и клинически изолированный синдром (CIS), предпочтительно у взрослых.

В частности, настоящее изобретение относится к лечению рецидивирующе-ремиттирующего рассеянного склероза (RRMS). В качестве альтернативы, настоящее изобретение относится к лечению вторично-прогрессирующего MS (SPMS), в частности активного SPMS. Дополнительно в качестве альтернативы, настоящее изобретение относится к лечению клинически изолированного синдрома (CIS).

В одном варианте осуществления LOU064 вводят перорально в дозе, составляющей от приблизительно 10 мг до приблизительно 500 мг два раза в день, или в дозе, составляющей от приблизительно 25 мг до приблизительно 400 мг два раза в день, или в

дозе, составляющей от приблизительно 50 мг до приблизительно 300 мг два раза в день, или в дозе, составляющей от приблизительно 50 мг до приблизительно 250 мг два раза в день, или в дозе, составляющей от приблизительно 50 мг до приблизительно 150 мг два раза в день.

Предпочтительно LOU064 вводят перорально в дозе, составляющей от приблизительно 50 мг до приблизительно 150 мг два раза в день, более предпочтительно в дозе, составляющей приблизительно 100 мг два раза в день.

В другом варианте осуществления, LOU064 вводят перорально в дозе, составляющей от приблизительно 100 мг до приблизительно 300 мг два раза в день, более предпочтительно в дозе, составляющей приблизительно 250 мг два раза в день.

В подходящем фармацевтическом составе LOU064 может присутствовать в любой фармацевтически приемлемой форме. Может оказаться предпочтительным включать LOU064 в фармацевтический состав в виде частиц нанометрового размера или микрометрового размера.

Если LOU064 присутствует в фармацевтическом составе в форме частиц нанометрового размера, средний размер частиц может составлять менее 1000 нм. Предпочтительно средний размер частиц LOU064 может составлять менее 500 нм, более предпочтительно менее 250 нм.

В предпочтительном варианте осуществления средний размер частиц LOU064 может составлять от приблизительно 50 нм до приблизительно 1000 нм, или от приблизительно 50 нм до приблизительно 750 нм, или от приблизительно 60 нм до приблизительно 500 нм, или от приблизительно 70 нм до приблизительно 350 нм, или от приблизительно 100 нм до приблизительно 170 нм, более предпочтительно средний размер частиц LOU064 может составлять от приблизительно 100 нм до приблизительно 350 нм, или от приблизительно 110 нм до приблизительно 200 нм, или от приблизительно 120 нм до приблизительно 180 нм, или от приблизительно 120 нм до приблизительно 160 нм, предпочтительно средний размер частиц LOU064 может составлять от приблизительно 150 нм до приблизительно 200 нм.

Если LOU064 присутствует в фармацевтическом составе в форме частиц нанометрового размера, пероральное введение предпочтительно осуществляется в дозе, составляющей от приблизительно 50 мг до приблизительно 150 мг два раза в день, более предпочтительно в дозе, составляющей приблизительно 100 мг два раза в день.

Если LOU064 присутствует в фармацевтическом составе в форме частиц микрометрового размера, средний размер частиц может составлять 1-5 мкм или предпочтительно 1,0-1,5 мкм. Предпочтительно средний размер частиц LOU064 может составлять от 1,1 до 1,3 мкм.

Если LOU064 присутствует в фармацевтическом составе в форме частиц микрометрового размера, пероральное введение предпочтительно осуществляется в дозе, составляющей от приблизительно 100 мг до приблизительно 300 мг два раза в день, например в дозе, составляющей приблизительно 100 мг два раза в день.

В предпочтительном варианте осуществления индекс полидисперсности (PI) составляет от 0,01 до 0,5, более предпочтительно от 0,1 до 0,2, в частности 0,12-0,14. Предпочтительное распределение частиц по размеру показано на фигуре 20.

Вышеупомянутые средние размеры частиц являются взвешенными по интенсивности. Средний размер частиц можно определить посредством динамического рассеяния света. Предпочтительно средний размер частиц определяют с помощью фотонной корреляционной спектроскопии (PCS). В частности, для определения среднего размера частиц можно использовать прибор "Zetasizer Nano ZS", версия 7.13 от Malvern Panalytical Ltd., Великобритания.

Предпочтительно измерение проводят способом влажного диспергирования с использованием раствора 0,1 мМ NaCl в очищенной воде (1:10), где коэффициент ослабления составляет 2-9, в частности 5. Измерение предпочтительно проводят при 25°C. Другие предпочтительные настройки измерительных систем представляют собой следующее:

Ячейка - одноразовая кювета для определения размеров;
скорость счета (килоимпульсов в секунду) - 315;
продолжительность - 60 сек;
положение измерения (мм) - 4,65.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения композиция на основе LOU064 составлена в соответствии с обычными процедурами в виде фармацевтической композиции, адаптированной для перорального введения человеку. Обычно композиции для перорального введения представляют собой капсулы или таблетки.

В одном варианте осуществления состав для LOU064 может быть составлен в соответствии с составом, раскрытым в заявке на патент США под номером 63/141558 или родственных документах, включенных в данный документ посредством ссылки.

В соответствии с настоящим изобретением подходящая фармацевтическая композиция для перорального введения содержит LOU064 и связующее вещество.

Подходящие связующие вещества включают сополимер поливинилпирролидона и винилацетата, поливинилпирролидон, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, гипромеллозу, карбоксиметилцеллюлозу, метилцеллюлозу, гидроксиэтилцеллюлозу, карбоксиэтилцеллюлозу, карбоксиметилгидроксиэтилцеллюлозу, полиэтиленгликоль, поливиниловый спирт, шеллак, сополимер поливинилового спирта и полиэтиленгликоля, сополимер полиэтилена и пропиленгликоля или их смесь. Предпочтительно связующее вещество представляет собой сополимер поливинилпирролидона и винилацетата.

Весовое соотношение LOU064 и связующего вещества может составлять от приблизительно 3: 1 до приблизительно 1: 3; например, приблизительно 3: 1, приблизительно 2: 1, приблизительно 1: 1, предпочтительно весовое соотношение LOU064 и связующего вещества составляет приблизительно 2: 1 или приблизительно 1: 1.

Предпочтительно подходящая фармацевтическая композиция для перорального

введения содержит LOU064, связующее вещество и поверхностно-активное вещество.

Подходящие поверхностно-активные вещества включают лаурилсульфат натрия, лаурилсульфат калия, лаурилсульфат аммония, лауретсульфат натрия, полисорбаты, перфторбутансульфонат, диоктилсульфосукцинат или их смесь. Предпочтительно поверхностно-активное вещество представляет собой лаурилсульфат натрия.

Весовое соотношение LOU064, связующего вещества и поверхностно-активного вещества составляет приблизительно 2: 1: 0,5, или приблизительно 2: 1: 0,1, или приблизительно 2: 1: 0,08, или приблизительно 2: 1: 0,05, или приблизительно 2: 1: 0,04, или приблизительно 2: 1: 0,03, или приблизительно 2: 1: 0,02. Предпочтительно весовое соотношение LOU064, связующего вещества и поверхностно-активного вещества составляет приблизительно 2: 1: 0,08 или приблизительно 1: 1: 0,05.

В особенно предпочтительном варианте осуществления подходящая фармацевтическая композиция для перорального введения содержит LOU064, связующее вещество и поверхностно-активное вещество, где связующее вещество представляет собой сополимер поливинилпирролидона и винилацетата (коповидон), а поверхностно-активное вещество представляет собой лаурилсульфат натрия (SLS), и где весовое соотношение LOU064, коповидона и SLS составляет приблизительно 2: 1: 0,08. Кроме того, особенно предпочтительно, чтобы LOU064 присутствовал в этой фармацевтической композиции в форме частиц нанометрового размера, предпочтительно характеризующихся средним размером частиц, измеренным с помощью PCS, составляющим от приблизительно 100 нм до приблизительно 200 нм.

Если доза LOU064 пропущена, ее предпочтительно ввести как можно скорее, не дожидаясь следующей запланированной дозы. Последующие дозы следует вводить через рекомендуемые интервалы.

Безопасность при кратковременном применении для LOU064 при однократных дозах вплоть до 600 мг и дополнительно при 100 мг b.i.d. на протяжении до 18 дней была показана в клинических исследованиях фазы I. Однако данные о безопасности при долгосрочном применении отсутствуют.

Учитывая дозолимитирующие побочные эффекты, наблюдаемые при применении ковалентных необратимых ингибиторов ВТК, представляющих собой эвобрутиниб и толебрутиниб, где в случае эвобрутиниба наблюдается дозолимитирующее повышение активности ферментов печени уже при дозе, составляющей 75 мг b.i.d., в клинических исследованиях фазы II, а в случае толебрутиниба наблюдается дозолимитирующая диарея (Becker A. et al., 2019, Clin Transl Sci; 13,325-336; Montalban X. et al., 2019, N Engl J Med; 380(25): 2406-17, Smith P.F. et al., 2019, ASTRIMS Forum, 28 февраля 2019 г., P072), очень удивительно, что LOU064 в еще более высокой дозе, составляющей 100 мг b.i.d., в течение длительного периода времени не вызывает каких-либо подобных нежелательных эффектов, что делает LOU064 особенно подходящим для долгосрочного лечения. В частности, LOU064 не вызывает каких-либо дозолимитирующих повышений активности ферментов печени и других нецелевых эффектов при дозе, составляющей 100 мг b.i.d., в

течение длительного периода времени.

В частности, неожиданно было обнаружено, что LOU064 не только предотвращает нежелательные побочные эффекты дольше, чем другие DMT, особенно, чем другие ингибиторы ВТК, но также сохраняет активность, т. е. поддерживает эффективность дольше, чем другие DMT, особенно, чем другие ингибиторы ВТК.

Кроме того, неожиданно было обнаружено, что LOU064 отсрочивает ухудшение симптомов на более длительный период времени, чем другие DMT, в частности, чем другие ингибиторы ВТК.

Следовательно, в предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения LOU064 или его фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении MS используется при долгосрочном лечении. Термин "долгосрочное лечение" означает, что LOU064 или его фармацевтически приемлемая соль используется в течение длительного периода времени. Например, LOU064 или его фармацевтически приемлемую соль можно использовать в течение более 2 лет, 3 лет, 4 лет, 5 лет, 10 лет. LOU064 или его фармацевтически приемлемую соль можно использовать вплоть до 5 лет, 10 лет, 15 лет, 20 лет или в течение всей жизни.

Поскольку лечение рассеянного склероза может длиться десятилетия, часто возникает необходимость внесения изменений в план лечения, чтобы приспособиться к меняющимся обстоятельствам, таким как нежелательные эффекты, неэффективность лечения, обострение заболевания на фоне лечения, прогрессирование заболевания, сопутствующие заболевания, события жизненного цикла, такие как беременность и лактация, и/или меняющиеся предпочтения пациента.

Смена лекарственных средств или полное прекращение приема иммуномодулирующих средств могут сделать пациентов уязвимыми к рецидивам или прогрессированию заболевания. В ряде случаев после отмены лечения на основе клинической картины и данных МРТ отмечается выраженная активность заболевания MS. Если активность этого заболевания несоизмерима с той картиной, которая наблюдалась до начала лечения, говорят, что у пациентов наблюдается "рикошет".

В соответствии с настоящим изобретением LOU064 обеспечивает мощную и эффективную стратегию лечения для предотвращения рецидивов. LOU064 также обеспечивает мощную и эффективную стратегию лечения в отношении обострения заболевания на фоне лечения с помощью других DMT. Более того, LOU064 обеспечивает мощную и эффективную стратегию лечения для предотвращения "рикошета" после прекращения приема другого DMT.

Следовательно, в одном варианте осуществления LOU064 используют у пациентов, которые получали лечение с помощью средства терапии, модифицирующего течение заболевания, отличного от LOU064. Другими словами, пациентов, которые получали лечение с помощью предшествующего средства терапии, модифицирующего течение заболевания, отличного от LOU064, переводят с предшествующего средства лечения, модифицирующего течение заболевания, на LOU064.

В одном варианте осуществления лекарственное средство, представляющее собой предшествующее средство терапии, модифицирующее течение заболевания, отличное от LOU064, выбрано из ингибитора В-клеток и/или Т-клеток: терифлуномида, митоксантрона, диметилфумарата, кладрибина, финголимода, сипонимода, понесимода, глатирамера ацетата и бета-интерферона.

В предпочтительном варианте осуществления LOU064 вводят пациентам, которые прекратили прием предшествующего ДМТ, например, средства терапии на основе антитела к CD20, из-за побочных эффектов, таких как тяжелые инфузионные реакции или рецидивирующие инфекции.

В предпочтительном варианте осуществления пациента переводят с предшествующего средства терапии, модифицирующего течение заболевания, на LOU064 в тех случаях, когда предшествующее средство терапии, модифицирующее течение заболевания, является недостаточно эффективным. Недостаточная эффективность имеет место, например, если у пациента, получающего средство терапии, модифицирующее течение заболевания (ДМТ), наблюдаются признаки активности заболевания, такие как рецидивы или очаги поражения. Недостаточную эффективность можно определить как неспособность остановить или замедлить прогрессирование заболевания надлежащим образом. Другими словами, настоящее изобретение направлено на применение LOU064 для лечения лиц, невосприимчивых в отношении предшествующего ДМТ.

В другом предпочтительном варианте осуществления пациента переводят с предшествующего средства терапии, модифицирующего течение заболевания, на LOU064 в тех случаях, когда у пациента имеется непереносимость предшествующего средства терапии, модифицирующего течение заболевания. Предпочтительно непереносимость связана с наличием нежелательных явлений, таких как головная боль, головокружение, тошнота, инфекции (такие как опоясывающий герпес), макулярный отек, инфузионные реакции или рецидивирующие инфекции. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения прием предшествующего средства терапии, модифицирующего течение заболевания, отличного от LOU064, прекращают до начала введения LOU064.

Хотя в целом LOU064 и другое средство терапии, модифицирующее течение заболевания, можно применять одновременно, предпочтительно, чтобы лечение с помощью LOU064 представляло собой монотерапию, т. е. LOU064 предпочтительно представляет собой единственное вводимое лекарственное средство, модифицирующее течение заболевания.

Таким образом, в одном варианте осуществления LOU064 предназначен для применения в лечении рассеянного склероза, где лечение представляет собой монотерапию.

Ожидается, что LOU064 является чувствительным субстратом CYP3A, и нельзя исключать, что величина воздействия этого перорального лекарственного средства может увеличиться в несколько раз при введении с сильными ингибиторами CYP3A4. Аналогичным образом, сильные индукторы CYP3A4 могут значительно снизить величину

воздействия лекарственного средства и привести к снижению эффективности. Эти свойства LOU064 актуальны не только для MS, но и для любого состояния, вызванного ВТК.

Одновременное введение с сильными ингибиторами и/или индукторами СYP3A4 может вызвать существенные изменения величины воздействия лекарственного средства на основе LOU064 и этого следует избегать. Ингибиторы СYP3A4 включают сильные ингибиторы СYP3A4, такие как боцепревир, кларитромицин, кобицистат, кониваптан, данопревир/ритонавир, дарунавир/ритонавир, элвитегравир/ритонавир, грейпфрутовый сок, идеалалисиб, индинавир, индинавир/ритонавир, итраконазол, кетоконазол, LCL161, лопинавир/ритонавир, мибефрадил, нефазодон, нелфинавир, позаконазол, ритонавир, саквинавир, саквинавир/ритонавир, телапревир, телитромицин, типранавир/ритонавир, тролеандомицин, Викайра пак и/или вориконазол.

Следовательно, в другом предпочтительном варианте осуществления LOU064 не вводят одновременно с сильным ингибитором и/или индуктором СYP3A4.

Кроме того, было обнаружено, что LOU064 можно вводить совместно с контрацептивами для перорального применения, такими как этинилэстрадиол или левоноргестрел, без существенного влияния на их воздействие и эффективность. Поэтому в предпочтительном варианте осуществления LOU064 вводят совместно с контрацептивами для перорального применения.

В предпочтительном варианте осуществления никакой премедикации перед введением первой дозы LOU064 не проводится.

LOU064 действует в качестве ковалентного необратимого ингибитора ВТК посредством необратимого ингибирования ВТК, которому противодействует синтез белка *de novo*. Таким образом без ограничения какой-либо теорией полагают, что, в то время как восстановление пула В-клеток после истощения по В-клеткам может занять несколько месяцев, восстановление функции В-клеток после ингибирования ВТК может быть достигнуто вскоре после прекращения приема, в частности в течение дней. Следовательно, в случае необходимости эту терапию можно быстро прекратить, что позволяет врачам и пациентам легче и быстрее реагировать при возникновении непредвиденных обстоятельств.

Таким образом, в одном варианте осуществления LOU064 преимущественно выбирают, если пациентка планирует забеременеть в течение следующих 12 месяцев.

В другом варианте осуществления LOU064 преимущественно выбирают, если пациенту предстоит пройти химиотерапию в течение следующих 12 месяцев.

Особенно в свете пандемии COVID-19 2020 года пациенты с истощением по В-клеткам имеют более высокий риск заражения. Более того, отсутствие полностью функционального адаптивного иммунного ответа, вероятно, приводит к более тяжелому течению.

Однако, поскольку LOU064 не приводит к истощению по пулу В-клеток, прекращение терапии приводит к быстрому восстановлению полной функции В-клеток.

Это дает пациентам и лечащим врачам возможность быстро реагировать на инфекционное заболевание или требования к вакцинации, в частности вакцинации живыми вакцинами и аттенуированными вакцинами.

В соответствии с настоящим изобретением LOU064 можно вводить во время инфекции, например, во время инфекции COVID-19. Таким образом, введение LOU064 можно продолжать во время инфекции, например во время инфекции COVID-19.

В качестве альтернативы, введение LOU064 отсрочивают у пациентов с активной инфекцией, например COVID-19, до тех пор, пока инфекция не будет устранена.

Таким образом, один вариант осуществления настоящего изобретения относится к LOU064 для применения в лечении рассеянного склероза, где осуществляется лечение пациента с острой инфекцией COVID-19 или пациента, у которого эта инфекция была ранее.

В предпочтительном варианте осуществления лечение с помощью LOU064 продолжают во время инфекции COVID-19.

В дополнительном варианте осуществления лечение с помощью LOU064 прерывают во время инфекции COVID-19 и продолжают после преодоления этой инфекции.

Еще один вариант осуществления настоящего изобретения относится к LOU064 для применения в лечении ВТК-опосредованного состояния, в частности рассеянного склероза, где пациента вакцинируют во время терапии на основе LOU064. В качестве альтернативы, пациент может быть вакцинирован во время терапии на основе LOU064 с помощью неживых вакцин.

В одном варианте осуществления пациента вакцинируют четырехвалентной вакциной против гриппа, вакциной PPV-23 или неоантигенной вакциной с KLH во время терапии на основе LOU064 (например, в день 15 после начала терапии на основе LOU064). В одном аспекте этого варианта осуществления у пациента, получающего четырехвалентную вакцину против гриппа, достигается ответ, определяемый по более чем 4-кратному увеличению титров антител к гемагглютинуину через 28 дней после вакцинации по сравнению с исходным уровнем. В другом аспекте этого варианта осуществления у пациента, получающего вакцину PPV-23, достигается более чем 2-кратное увеличение титров IgG через 28 дней после вакцинации по сравнению с исходным уровнем. В еще одном варианте осуществления у пациента, получающего неоантигенную вакцину с KLH, достигается Т-клеточно-зависимый гуморальный иммунный ответ, измеряемый по титрам IgG и IgM к KLH через 28 дней после вакцинации.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения относится к LOU064 для применения в лечении ВТК-опосредованного состояния, в частности рассеянного склероза, где лечение с помощью LOU064 прекращают из-за вакцинации, в частности, где лечение с помощью LOU064 прекращают за 5-10 дней (например, за 7 или 8 дней), предпочтительно за 6 недель до вакцинации, и продолжают после вакцинации, например, через 5-20 дней, предпочтительно через 5-10 дней, или наиболее предпочтительно через

10-15 дней после вакцинации. В конкретном аспекте этого варианта осуществления пациента вакцинируют четырехвалентной вакциной против гриппа, вакциной PPV-23 или неоантигенной вакциной с KLH после прекращения лечения с помощью LOU064 (например, через 5-10 дней или через 7 или 8 дней после прекращения лечения с помощью LOU064). В одном аспекте этого варианта осуществления у пациента, получающего четырехвалентную вакцину против гриппа, достигается ответ, определяемый по более чем 4-кратному увеличению титров антител к гемагглютинирующему белку через 28 дней после вакцинации по сравнению с исходным уровнем. В другом аспекте этого варианта осуществления у пациента, получающего вакцину PPV-23, достигается более чем 2-кратное увеличение титров IgG через 28 дней после вакцинации по сравнению с исходным уровнем. В еще одном варианте осуществления у пациента, получающего неоантигенную вакцину с KLH, достигается Т-клеточно-зависимый гуморальный иммунный ответ, измеряемый по титрам IgG и IgM к KLH через 28 дней после вакцинации. Затем лечение с помощью LOU064 продолжают, начиная с дня 29 после вакцинации.

В альтернативном варианте осуществления вакцинация представляет собой вакцинацию живыми вакцинами и/или аттенуированными вакцинами. В предпочтительном варианте осуществления LOU064 можно вводить независимо от веса тела, пола, возраста, расы или количества В-клеток на исходном уровне. Например, предпочтительно, чтобы 35-летняя женщина с весом тела 60 кг получала ту же дозу, что и 50-летний мужчина с весом тела 90 кг. В частности, вес тела, пол, возраст, раса или количество В-клеток на исходном уровне не характеризуются наличием клинически значимого эффекта в отношении фармакокинетики LOU064.

В соответствии с настоящим изобретением лечение с помощью LOU064 одинаково эффективно в любых расовых и этнических группах.

Таким образом, настоящее изобретение дополнительно относится к LOU064 для применения в лечении рассеянного склероза, где лечение представляет собой лечение, при назначении которого не учитываются этнические признаки.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения пациента, получающего LOU064 или его фармацевтически приемлемую соль для лечения MS, выбирают согласно следующим критериям:

- пациент имеет балл по шкале EDSS от 0 до 5,5 до первого введения LOU064,
- у пациента произошел по меньшей мере один рецидив в течение предыдущего года или два рецидива в течение предыдущих двух лет до первого введения LOU064, и
- пациент получил подтверждающий диагноз снимок МРТ с Gd-контрастированием в течение предыдущего года/6 месяцев до первого введения LOU064.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения LOU064 вводят после рецидива.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения LOU064 вводят после обнаружения по меньшей мере одного Gd+ очага поражения за предыдущие 12 месяцев до первого введения LOU064.

В еще одном предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения LOU064 вводят после обнаружения новых или увеличивающихся очагов поражения T2.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения LOU064 выбран для применения в лечении рассеянного склероза у пациентов, для которых лечение модулятором S1P не может быть выбрано из-за менее благоприятного соотношения риск/польза. Такими пациентами являются, например, пациенты, восприимчивые в отношении одного или нескольких заболеваний или нарушений, влияющих на сердце или сердечный ритм, функции дыхания, глаза, функции печени, или страдающие от таковых. В частности, такие пациенты включают пациентов, которые могут быть более восприимчивы к нежелательным явлениям, таким как преходящее снижение частоты сердечных сокращений и сердечной проводимости.

В настоящем изобретении неожиданно было обнаружено, что введение LOU064 преимущественно приводит к по меньшей мере одному из следующего:

- уменьшение среднего общего количества очагов поражения при контрастировании гадолинием по сравнению с пациентами, не получавшими лечения, и/или по сравнению с пациентами, получающими другое средство лечения, модифицирующее течение заболевания, выбранное из интерферона, терифлуномида, глатирамера ацетата и диметилфумарата, предпочтительно из интерферона, терифлуномида и диметилфумарата, более предпочтительно из терифлуномида или интерферона,

- снижение частоты рецидивов в годовом исчислении по сравнению с пациентами, не получавшими лечения, и/или по сравнению с пациентами, получающими другое средство лечения, модифицирующее течение заболевания, выбранное из интерферона, терифлуномида, глатирамера ацетата и диметилфумарата, предпочтительно из интерферона, терифлуномида и диметилфумарата, более предпочтительно из терифлуномида или интерферона,

- более длительное время для достижения 3-месячного подтвержденного прогрессирования инвалидизации по сравнению с пациентами, получающими другое средство лечения, модифицирующее течение заболевания, выбранное из интерферона, терифлуномида, глатирамера ацетата и диметилфумарата, предпочтительно из интерферона, терифлуномида и диметилфумарата, более предпочтительно из терифлуномида или интерферона.

В этом отношении дополнительным объектом настоящего изобретения является LOU064 для применения в лечении рецидивирующего рассеянного склероза, где LOU064 снижает среднее общее количество очагов поражения при контрастировании гадолинием по сравнению с пациентами, не получавшими лечение, и/или по сравнению с пациентами, получающими другое средство лечения, модифицирующее течение заболевания, выбранное из интерферона, терифлуномида, глатирамера ацетата, диметилфумарата, предпочтительно из интерферона, терифлуномида и диметилфумарата, более предпочтительно из терифлуномида или интерферона, в течение вплоть до 60 месяцев,

или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно 12-24 месяца.

Еще одним объектом настоящего изобретения является LOU064 для применения в лечении рецидивирующего рассеянного склероза, где LOU064 приводит к снижению частоты рецидивов в годовом исчислении по сравнению с пациентами, не получавшими лечения, и/или по сравнению с пациентами, получающими другое средство лечения, модифицирующее течение заболевания, выбранное из интерферона, терифлуномида, глатирамера ацетата и диметилфумарата, предпочтительно из интерферона, терифлуномида и диметилфумарата, более предпочтительно из терифлуномида или интерферона, в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно 12-24 месяца.

Другим объектом настоящего изобретения является LOU064 для применения в лечении рецидивирующего рассеянного склероза, где LOU064 приводит к более длительному времени достижения 3-месячного подтвержденного прогрессирования инвалидизации по сравнению с пациентами, получавшими другое средство лечения, модифицирующее течение заболевания, выбранное из интерферона, терифлуномида, глатирамера ацетата и диметилфумарата, предпочтительно из интерферона, терифлуномида и диметилфумарата, более предпочтительно из терифлуномида или интерферона, в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно 12-24 месяцев.

Другим объектом настоящего изобретения является LOU064 для применения в лечении рецидивирующего рассеянного склероза, где LOU064 приводит к улучшению в отношении симптомов MS, что измеряется по снижению баллов согласно одной или нескольким сообщаемым пациентами оценкам результатов (PRO) (т. е. MSIS-29, PHQ-9, GAD-7, FSIQ-RMS и BPI-SF), по сравнению с пациентами, не получавшими лечения, и/или по сравнению с пациентами, получающими другое средство лечения, модифицирующее течение заболевания, выбранное из интерферона, терифлуномида, глатирамера ацетата и диметилфумарата, предпочтительно из интерферона, терифлуномида и диметилфумарата, более предпочтительно из терифлуномида или интерферона, в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно 12-24 месяцев.

Другим объектом настоящего изобретения является LOU064 для применения в лечении рецидивирующего рассеянного склероза, где LOU064 приводит к улучшению в отношении симптомов MS, что измеряется по снижению баллов согласно одной или нескольким сообщаемым пациентами оценкам результатов (PRO) (т. е. MSIS-29, PHQ-9, GAD-7, FSIQ-RMS и BPI-SF), по сравнению с исходным уровнем в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно 12-24 месяцев. В одном аспекте этого варианта осуществления улучшение в отношении симптомов MS достигается за счет снижения на по меньшей мере 6 единиц (предпочтительно на по меньшей мере 8 единиц) по сравнению с исходным

уровнем балла по шкале MSIS-29 после лечения с помощью LOU064 (100 мг bid) в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно в течение 12-24 месяцев. В другом аспекте этого варианта осуществления улучшение в отношении симптомов MS достигается за счет снижения на по меньшей мере 2 единицы (предпочтительно на по меньшей мере 3 единицы, более предпочтительно на по меньшей мере 5 единиц) балла по шкале PHQ9 по сравнению с исходным уровнем после лечения с помощью LOU064 (100 мг bid) в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно в течение 12-24 месяцев. В еще одном аспекте этого варианта осуществления улучшение в отношении симптомов MS достигается за счет снижения на по меньшей мере 2 единицы (предпочтительно на по меньшей мере 3 единицы) балла по шкале GAD-7 по сравнению с исходным уровнем после лечения с помощью LOU064 (100 мг bid) в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно в течение 12-24 месяцев. В еще одном аспекте этого варианта осуществления улучшение в отношении симптомов MS достигается за счет снижения на по меньшей мере 1 единицу (предпочтительно на по меньшей мере 2 единицы) балла по шкале BPI-SF по сравнению с исходным уровнем после лечения с помощью LOU064 (100 мг bid) в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение до 24 месяцев, предпочтительно в течение 12-24 месяцев.

Другим объектом настоящего изобретения является LOU064 для применения в лечении рецидивирующего рассеянного склероза, где LOU064 приводит к улучшению в отношении симптомов MS, что измеряется по увеличению баллов согласно сообщаемой пациентами оценке результатов (PRO) HUI-III, по сравнению с пациентами, не получавшими лечения, и/или по сравнению с пациентами, получающими другое средство лечения, модифицирующее течение заболевания, выбранное из интерферона, терифлуномида, глатирамера ацетата и диметилфумарата, предпочтительно из интерферона, терифлуномида и диметилфумарата, более предпочтительно из терифлуномида или интерферона, в течение до вплоть 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно 12-24 месяцев.

Другим объектом настоящего изобретения является LOU064 для применения в лечении рецидивирующего рассеянного склероза, где LOU064 приводит к улучшению в отношении симптомов MS, что измеряется по увеличению баллов согласно сообщаемым пациентами оценкам результатов (PRO) HUI-III, по сравнению с исходным уровнем в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно 12-24 месяцев. В одном аспекте этого варианта осуществления улучшение в отношении симптомов MS достигается за счет увеличения на по меньшей мере 0,02 единицы (предпочтительно на по меньшей мере 0,03 единицы) балла по шкале HUI после лечения с помощью LOU064 (100 мг bid) в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно в течение 12-24 месяцев.

Другим объектом настоящего изобретения является LOU064 для применения в лечении рецидивирующего рассеянного склероза, где LOU064 приводит к улучшению в отношении симптомов MS, что измеряется по снижению баллов по SDMT по сравнению с пациентами, не получавшими лечения, и/или по сравнению с пациентами, получающими другое средство лечения, модифицирующее течение заболевания, выбранное из интерферона, терифлуномида, глатирамера ацетата и диметилфумарата, предпочтительно из интерферона, терифлуномида и диметилфумарата, более предпочтительно из терифлуномида или интерферона, в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно 12-24 месяцев.

Другим объектом настоящего изобретения является LOU064 для применения в лечении рецидивирующего рассеянного склероза, где LOU064 приводит к улучшению в отношении симптомов MS, что измеряется по снижению показателей по SDMT по сравнению с исходным уровнем в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно 12-24 месяцев. В одном аспекте этого варианта осуществления улучшение в отношении симптомов MS достигается за счет снижения на по меньшей мере 3 единицы (предпочтительно на по меньшей мере 5 единиц) балла по SDMT после лечения с помощью LOU064 (100 мг bid) в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно в течение 12-24 месяцев.

Другим объектом настоящего изобретения является LOU064 для применения в лечении рецидивирующего рассеянного склероза, где LOU064 приводит к увеличению скорости ходьбы, которую измеряют с помощью T25FW, по сравнению с пациентами, не получавшими лечения, и/или по сравнению с пациентами, получающими другое средство лечения, модифицирующее течение заболевания, выбранное из интерферона, терифлуномида, глатирамера ацетата и диметилфумарата, предпочтительно из интерферона, терифлуномида и диметилфумарата, более предпочтительно из терифлуномида или интерферона, в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно 12-24 месяцев.

Другим объектом настоящего изобретения является LOU064 для применения в лечении рецидивирующего рассеянного склероза, где LOU064 приводит к увеличению скорости ходьбы, которую измеряют с помощью T25FW, по сравнению с исходным уровнем в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно 12-24 месяцев. Результат T25FW на исходном уровне определяется как последняя оценка перед введением первой дозы LOU064.

Другим объектом настоящего изобретения является LOU064 для применения в лечении рецидивирующего рассеянного склероза, где LOU064 приводит к увеличению скорости, с которой пациент выполняет тест 9НРТ, по сравнению с пациентами, не получавшими лечения, и/или по сравнению с пациентами, получающими другое средство лечения, модифицирующее течение заболевания, выбранное из интерферона,

терифлуномида, глатирамера ацетата и диметилфумарата, предпочтительно из интерферона, терифлуномида и диметилфумарата, более предпочтительно из терифлуномида или интерферона, в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно 12-24 месяцев.

Другим объектом настоящего изобретения является LOU064 для применения в лечении рецидивирующего рассеянного склероза, где LOU064 приводит к увеличению скорости, с которой пациент выполняет тест 9НРТ, по сравнению с исходным уровнем в течение вплоть до 60 месяцев, или в течение вплоть до 30 месяцев, или в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно 12-24 месяцев. Результат 9НРТ на исходном уровне определяется как последняя оценка перед введением первой дозы LOU064.

В настоящем изобретении также неожиданно было обнаружено, что при введении LOU064 к неделе 12 или к неделе 24 лечения уровни аланинаминотрансферазы (ALT), аспаратаминотрансферазы (AST) и липазы преимущественно не изменяются на более чем 10% по сравнению с исходным уровнем в начале терапии.

Соответственно, в настоящем изобретении неожиданно было обнаружено, что введение LOU064 преимущественно приводит к по меньшей мере одному из следующего:

- относительное снижение частоты рецидивов в годовом исчислении на 45-50%, предпочтительно на 55-60%, по сравнению с терифлуномидом,
- относительное снижение среднего общего количества очагов поражения при контрастировании гадолинием (Gd+ T1) на 60-75%, предпочтительно на 90-95%, по сравнению с терифлуномидом,
- относительное уменьшение количества новых/увеличивающихся очагов поражения T2 на 65-70%, предпочтительно на 80-85%, по сравнению с терифлуномидом,
- относительное уменьшение времени достижения 3-месячного подтвержденного прогрессирования инвалидизации (3mCDP) на ~30%, предпочтительно на 30-35%, по сравнению с терифлуномидом,
- относительное уменьшение времени достижения 6-месячного подтвержденного прогрессирования инвалидизации (6mCDP) на ~30-35%, предпочтительно на 35-40%, по сравнению с терифлуномидом,
- отсутствие признаков способности к заболеванию у 6-7/10 пациентов, предпочтительно у 8-9/10 пациентов через 12-60 месяцев, или через 12-30 месяцев, или через 12-24 месяца (NEDA-3),
- относительное снижение концентрации NfI в сыворотке крови на по меньшей мере 20% по сравнению с терифлуномидом.

Кроме того, неожиданно было обнаружено, что лечение с помощью LOU064 является таким же эффективным в снижении годичной частоты рецидивов, как и терапия, обеспечивающая истощение по CD20, в частности оно является превосходящим в снижении годичной частоты рецидивов при сравнении с терапией, обеспечивающей истощение по CD20.

Настоящее изобретение дополнительно относится к LOU064 для изготовления

лекарственного препарата для применения в лечении рассеянного склероза, где лекарственный препарат предпочтительно вводят перорально в дозе, составляющей от приблизительно 50 мг до приблизительно 150 мг два раза в день.

Дополнительным объектом настоящего изобретения является способ лечения рассеянного склероза, при этом указанное лечение предусматривает пероральное введение LOU064 пациенту, нуждающемуся в таком лечении, предпочтительно в дозе, составляющей от приблизительно 50 мг до приблизительно 150 мг два раза в день.

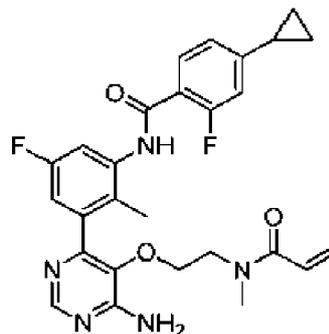
Дополнительным объектом настоящего изобретения является способ изготовления лекарственного препарата для применения в способах лечения, описанных выше.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Определения

Как используется в данном документе, “ингибитор ВТК” представляет собой любое вещество, способное ингибировать тирозинкиназу Брутона (ВТК), которая является цитоплазматической тирозинкиназой и представителем семейства киназ ТЕС. ВТК избирательно экспрессируется в клетках адаптивной и врожденной иммунной системы, включая В-клетки, макрофаги, тучные клетки, базофилы, а также в тромбоцитах. Примеры ингибиторов ВТК включают нековалентные обратимые ингибиторы ВТК, такие как фенебрутиниб, а также ковалентные необратимые ингибиторы ВТК, такие как эвобрутиниб, толебрутиниб, рилзабрутиниб, тирабрутиниб, бранебрутиниб, орелабрутиниб и ремибрутиниб (LOU064).

Как используется в данном документе, “LOU064”, который имеет INN ремибрутиниб, относится к соединению N-(3-(6-амино-5-(2-(N-метилакриламидо)этокси)пиримидин-4-ил)-5-фтор-2-метилфенил)-4-циклопропил-2-фторбензамид, имеющему следующую структурную формулу,



или его фармацевтически приемлемой соли, или его свободной форме. В одном варианте осуществления LOU064 относится к кристаллической форме LOU064, раскрытой в примере 1 из патентного документа WO2020/234779, который включен в данный документ посредством ссылки.

LOU064 представляет собой селективный мощный необратимый ковалентный ингибитор ВТК и относится к новому поколению разработанных ковалентных ингибиторов ферментов (Angst et al. 2020). Соединение было впервые раскрыто в примере 6 из патентного документа WO 2015/079417, поданного 28 ноября 2014 г.

Термины “лечение” или “лечить” можно определить как применение или введение, например LOU064, пациенту, целью которого является устранение, уменьшение или облегчение симптомов заболевания, такого как рассеянный склероз (MS). В частности, термин “лечение” предусматривает достижение клинически значимого эффекта для пациента, например достижение клинически значимого снижения годичной частоты рецидивов при лечении RMS. Этот термин может дополнительно включать отсрочивание прогрессирования в прогрессирующую форму MS.

Термин “пациент”, используемый в данном документе, может обозначать млекопитающее, например, примата, предпочтительно высшего примата, особенно предпочтительно человека (например, пациента, имеющего риск или подверженного риску возникновения нарушения, описанного в данном документе). Предпочтительно, пациент является взрослым человеком. Теоретически включены и гериатрические пациенты, однако предпочтительными являются пациенты в возрасте от 18 до 60 лет.

Как используется в данном документе, пациент может являться “нуждающимся” в лечении, если в результате такого лечения такой пациент получит благоприятный эффект с медицинской точки зрения или с точки зрения качества жизни.

Как используется в данном документе, термин “осуществление введения” или “введение” LOU064 может означать предоставление LOU064 пациенту, нуждающемуся в лечении. Введение “в комбинации с” одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами включает одновременное (параллельное) и последовательное введение в любом порядке и любым путем введения.

Как используется в данном документе, “терапевтически эффективное количество/доза” может относиться к количеству/дозе LOU064, которые являются эффективными, т. е. обеспечивают клинически значимый эффект.

Термин “нежелательное явление” (AE) может относиться к любому неблагоприятному медицинскому происшествию у пациента или в клиническом исследовании, где субъекту вводят фармацевтический продукт, которое не обязательно имеет причинно-следственную связь с данным лечением. Таким образом, нежелательное явление (AE) может представлять собой любой неблагоприятный или непредусмотренный признак (включая отклонение лабораторного показателя от нормы), симптом или заболевание, ассоциированные по времени с применением лекарственного (исследуемого) продукта, независимо от того, связаны они или нет с лекарственным (исследуемым) продуктом.

Фразы “терапевтическая схема” или “схема лечения” могут означать схему, используемую для лечения заболевания или для предупреждения патологического состояния или развития заболевания, например используемую дозировку. Терапевтическая схема или схема лечения могут включать схему индукции, нагрузочную схему и поддерживающую схему (например, нагрузочную дозу в качестве начальной дозы лекарственного средства, предпочтительно начальную более высокую дозу, которая может предоставляться в начале курса лечения (например, DMT) перед последующей

поддерживающей дозой, предпочтительно снижаясь до более низкой поддерживающей дозы).

Как используется в данном документе, “рассеянный склероз” относится к любой форме заболевания, включая первично-прогрессирующий рассеянный склероз (PPMS) и рецидивирующий рассеянный склероз (RMS), который включает рецидивирующе-ремиттирующий рассеянный склероз (RRMS), вторично-прогрессирующий рассеянный склероз (SPMS), в частности активный SPMS (с периодическими рецидивами и/или признаками новой активности по данным МРТ), и клинически изолированный синдром (CIS).

Первично-прогрессирующий MS (PPMS) характеризуется ухудшением неврологических функций (накоплением инвалидизации) с момента появления симптомов, без ранних рецидивов или ремиссий. В разные моменты времени PPMS можно дополнительно охарактеризовать как либо активный (с периодическими рецидивами и/или признаками новой активности по данным МРТ), либо неактивный, а также как с прогрессированием (признаки ухудшения проявлений заболевания по объективным показателям изменений с течением времени, с рецидивом или новой активностью по данным МРТ или без них) или без прогрессирования. См. Lublin 2014.

У каждого человека PPMS протекает по-разному. PPMS может иметь короткие периоды, когда заболевание стабильно, с рецидивом или новой активностью по данным МРТ или без них, а также периоды, когда происходит увеличение инвалидизации с новыми рецидивами или очагами поражения по данным МРТ или без них.

Термин RMS (рецидивирующий рассеянный склероз) охватывает RRMS, SPMS, в частности активный SPMS, и CIS.

Рецидивирующе-ремиттирующий рассеянный склероз (RRMS) характеризуется рецидивами, например, определяемыми как новый неврологический дефицит или эпизод неврологического ухудшения, продолжающимся более 24 часов, часто при отсутствии лихорадки или инфекции.

В периоды ремиссии выраженного прогрессирования заболевания не наблюдается. В разные моменты времени RRMS может быть дополнительно охарактеризован как либо активный (с рецидивами и/или признаками новой активности по данным МРТ), либо неактивный, а также как обуславливающий ухудшение (подтвержденное увеличение инвалидизации в течение определенного периода времени после рецидива) или не обуславливающий ухудшения. См. Lublin 2014, *Neurology*: 15 июля 2014 г.; 83(3): 278-286.

Вторично-прогрессирующий рассеянный склероз (SPMS) развивается по исходному рецидивирующе-ремиттирующему течению. У большинства людей, у которых диагностирован RRMS, в конечном итоге происходит переход ко вторично-прогрессирующему течению, при котором имеет место прогрессивное ухудшение неврологических функций (накопление инвалидизации) со временем. В разные моменты времени SPMS можно дополнительно охарактеризовать как либо активный (с рецидивами и/или признаками новой активности по данным МРТ), либо неактивный, а также как с

прогрессированием (признаки ухудшения проявлений заболевания по объективным показателям изменений с течением времени, с рецидивами или без них) или без прогрессирования. См. Lublin 2014, *Neurology*: 15 июля 2014 г.; 83(3): 278-286.

У каждого человека SPMS протекает по-разному. SPMS следует за рецидивирующе-ремиттирующим MS. Степень инвалидизации постепенно увеличивается с течением времени, с признаками активности заболевания (рецидивы или изменения по данным МРТ) или без них. При SPMS могут возникать периодические рецидивы, а также периоды стабильности. В соответствии с настоящим изобретением термин SPMS, в частности, относится к активному SPMS, т. е. SPMS с признаками активности заболевания, определяемыми по наличию рецидивов и/или изменений по данным МРТ.

Клинически изолированный синдром (CIS) может относиться к единичному клиническому приступу симптомов обусловленной воспалением демиелинизации в центральной нервной системе (ЦНС), которые указывают на рассеянный склероз (MS). Проявления CIS могут быть монофокальными или мультифокальными и обычно при них могут быть вовлечены зрительный нерв, ствол мозга, мозжечок, спинной мозг или полушария головного мозга. См. Miller et al., *Clinically isolated syndromes*, *Lancet Neurol.* 2012;11:157-169.

Рецидивы можно определить как новый неврологический дефицит или эпизод неврологического ухудшения, предпочтительно продолжительностью более 24 ч. Другими словами, рецидивы можно рассматривать как отдельные эпизоды (в данной области техники также называемые “приступами”, “вспышками” или “обострениями”) неврологической дисфункции, предпочтительно продолжающиеся по меньшей мере 24 ч. Обычно за рецидивами следует полное или частичное выздоровление и период, в течение которого не наблюдается прогрессирования симптомов или накопления инвалидизации (ремиссия).

Предполагается, что рецидивы вызваны новой или увеличивающейся демиелинизирующей бляшкой в месте воспалительного процесса в центральной нервной системе (ЦНС).

Пересмотренные критерии Макдональда (Thompson et al. 2018)

Согласно пересмотренным критериям Макдональда, диагноз MS вероятен, если повреждение миелина распространяется в пространстве (DIS), что видно по данным МРТ как:

— по меньшей мере один яркий очаг поражения T2 в по меньшей мере двух или четырех местах ЦНС: юкстакортикальной, перивентрикулярной и инфратенториальной области головного мозга и спинном мозге (T2 представляет собой наиболее распространенный метод МРТ-сканирования, используемый для диагностики MS и обнаружения участков повреждения миелина, старых и новых, в головном и спинном мозге);

— эти очаги поражения не требуют контрастирования гадолинием (контрастным материалом).

Что касается распространения повреждения миелина во времени (DIT), признаки по данным МРТ представляют собой

- новое повреждение T2 и/или с контрастированием гадолинием при МРТ в период последующего наблюдения по сравнению со сканированием на исходном уровне (независимо от времени, прошедшего с момента определения исходного уровня); в редакции 2005 года требовалось, чтобы между началом и первым приступом прошло по меньшей мере 30 дней;

- одновременное наличие бессимптомных повреждений с контрастированием гадолинием и без контрастирования в любой момент времени.

Прогрессирующий первичный MS (PPMS) характеризуется особыми требованиями при диагностике. В частности, согласно пересмотренным критериям Макдональда предусматривается по меньшей мере один год продемонстрированного прогрессирования (проспективно или ретроспективно), а также два из следующих трех результатов:

- признаки DIS в головном мозге наблюдаются в по меньшей мере одном очаге поражения T2 в трех ключевых областях головного мозга (перивентрикулярной, юкстакортикальной или инфратенториальной);

- признаки DIS в спинном мозге на основе DIS по меньшей мере двух очагов поражения T2 (≥ 2 повреждения T2);

- положительное участие CSF, видимое по наличию олигоклональных полос и/или высокому индексу IgG.

Gd⁺ очаг поражения

Гадолиний (“контраст”) представляет собой химическое соединение, которое вводят в вену человека во время МРТ-сканирования. Гадолиний обычно не может попасть из кровотока в головной или спинной мозг из-за гематоэнцефалического барьера. Но во время активного воспаления в головном или спинном мозге, как, например, при рецидиве MS, гематоэнцефалический барьер нарушается, позволяя гадолинию проходить через него. Затем гадолиний может проникнуть в головной или спинной мозг и попасть в очаг поражения MS, освещая его и создавая выделенное пятно на снимке МРТ. Такой очаг поражения MS называется очагом поражения, контрастированным гадолинием, или Gd⁺ очагом поражения.

Очаги поражения T1 и T2

T1 и T2 относятся к различным способам проведения МРТ, используемым для создания магнитно-резонансных изображений. В частности, T1 и T2 относятся ко времени, которое проходит между магнитными импульсами и регистрацией изображения. Эти различные способы используются для обнаружения различных структур или химических веществ в центральной нервной системе. Очаги поражения при T1 и T2 относятся к тому, были ли очаги поражения обнаружены с применением способа T1 или T2. МРТ-изображение T1 предоставляет информацию о текущей активности заболевания, выделяя области активного воспаления. МРТ-изображение T2 предоставляет информацию о бремени заболевания или нагрузке очагами поражения (общая величина площади очагов

поражения, как старых, так и новых).

EDSS

Расширенная шкала оценки степени инвалидизации (EDSS) представляет собой способ количественной оценки степени инвалидизации при рассеянном склерозе и мониторинга изменений уровня инвалидизации с течением времени.

Шкала EDSS имеет диапазон от 0 до 10 с шагом 0,5 единицы, что представляет более высокие уровни инвалидизации. Оценка основывается на осмотре неврологом.

Стадии EDSS с 1,0 по 4,5 относятся к людям с MS, которые могут ходить без какой-либо помощи, и основаны на показателях нарушений в восьми функциональных системах (FS):

- пирамидальная - мышечная слабость или трудности при движении конечностей;
- мозжечковая - атаксия, потеря равновесия, координации или тремор;
- ствола мозга - проблемы с речью, глотанием и нистагм;
- сенсорная - онемение или потеря чувствительности;
- функция кишечника и мочевого пузыря;
- зрительная функция - проблемы со зрением;
- мозговые функции - проблемы с мышлением и памятью;
- другое.

Функциональная система (FS) представляет собой сеть нейронов головного мозга, отвечающих за выполнение определенных задач. Каждая FS оценивается по шкале от 0 (отсутствие инвалидизации) до 5 или 6 (более тяжелая степень инвалидизации). См. Kurtzke JF. Rating Neurologic Impairment in Multiple Sclerosis: An Expanded Disability Status Scale (EDSS). *Neurology*: ноябрь 1983 г.; 33(11):1444-52.

Шкала влияния рассеянного склероза (MSIS-29)

MSIS-29, версия 2, представляет собой опросник для самостоятельного заполнения, состоящий из 29 пунктов и включающий 2 домена: физический и психологический. Ответы оценивались по 4-балльной порядковой шкале в диапазоне от 1 (совсем нет) до 4 (чрезвычайно), при этом более высокие баллы отражают большее влияние на повседневную жизнь. Заполнение MSIS-29 занимает приблизительно 5 минут, а вопросы предназначены для определения мнения пациента о влиянии MS на его повседневную жизнь в течение последних 2 недель. См. Hobart J and Cano S (2009), "Improving the evaluation of therapeutic interventions in multiple sclerosis: the role of new psychometric methods", *Health Technol Assess*; 13(12):iii, ix-x, 1-177. NS RO, Hobart J, Lamping D, Fitzpatrick R, et al. (2001), "The Multiple Sclerosis Impact Scale (MSIS-29): a new patient-based outcome measure", *Brain*; 124(Pt 5):962-73.

SDMT или тест на сопоставление символов и цифр представляет собой чувствительный и специфический тест для оценки скорости обработки информации, которая обычно поражена у участников с когнитивными нарушениями при MS (Benedict et al. 2017, *Mult Scler*; 23(5):721-733). Получаемый в тесте балл рассчитывается по количеству правильных ответов за 90 секунд (максимальное значение составляет 110,

минимальное значение ноль). Более высокие баллы указывают на улучшение, а более низкие баллы указывают на ухудшение.

T25FW или время ходьбы на 25 футов представляет собой время до 6-месячного подтвержденного ухудшения на по меньшей мере 20% в тесте ходьбы на 25 футов на время. T25FW представляет собой объективный количественный тест неврологической функции (Fischer et al. 1999, *Mult Scler*; 5:244-50) и широко используется в клинических испытаниях MS для оценки способности передвигаться. Это измерение способности передвигаться по оценке скорости ходьбы: время (в секундах) ходьбы на 25 футов (7,62 метра). Более длительное время указывает на ухудшение функции верхних конечностей. Улучшение на 20% определяется как сокращение времени в секундах на 20%.

9HPT или тест с девятью отверстиями и колышками (9HPT) представляет собой объективный количественный тест неврологической функции (Fischer et al. 1999 *Mult Scler*; 5:244-50) и широко используется в клинических испытаниях при MS для оценки ловкости. Измерения при тесте позволяют оценить баллы как для правой, так и для левой руки, метрикой является время в секундах, необходимое для вставки и удаления 9 колышков.

NfL или легкая цепь нейрофиламента NfL является компонентом цитоскелета нейронов и высвобождается в спинномозговую жидкость, а затем в кровь после нейроаксонального повреждения. Она была идентифицирована в качестве биомаркера для определения активности заболевания (Kuhle et al. 2019, *Ann Clin Transl Neurol*; 6(9):1757-1770), мониторинга заболевания (Akgün et al. 2019, *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*; 6(3):e555), ответа на лечение (Hauser et al. 2020, *N Engl J Med*; 546-557) и для предсказания активности заболевания и ухудшения в отношении инвалидизации у участников с MS (Barro et al. 2018, *Brain* 141:2382-2391, Kuhle et al. 2019, Kapoor et al. 2020 *Neurology*; 95(10):436-444, Jakimovski et al. 2019 *Ann Clin Transl Neurol*; 6(9):1757-1770).

GAD-7 или общее тревожное расстройство-7 представляет собой шкалу самооценки из 7 пунктов (разработанную Spitzer et al. 2006, *Arch Intern Med*; 166:1092-7), которая используется в качестве инструмента скрининга и индикатора степени тяжести GAD. Варианты ответа для данной шкалы состоят из 4-балльной шкалы Лайкерта: 0: совсем нет; 1: несколько дней; 2: более половины дней; 3: почти каждый день. Она имеет общий балл в диапазоне 0-21. Более высокий балл означает более высокую степень тяжести симптомов тревоги.

PHQ-9 или Опросник о состоянии здоровья пациента-9 представляет собой надежный и применимый модуль по депрессии из 9 пунктов из полной версии PHQ. Этот инструмент для самостоятельного применения используется для скрининга, диагностики, мониторинга и измерения степени тяжести депрессии. Кроме того, он используется для постановки на основе критериев диагноза депрессивных нарушений (Kroenke et al. 2001, *J Gen Intern Med*; 16:606-13).

Баллы по PHQ-9 могут варьировать от 0 до 27, поскольку каждый из 9 пунктов может быть оценен от 0 (совсем нет) до 3 (почти каждый день). Баллы по PHQ-9, равные

5, 10, 15 и 20, представляли легкую, умеренную, умеренно тяжелую и тяжелую степень депрессии соответственно.

BPI-SF или короткая форма Краткого опросника оценки выраженности боли представляет собой сокращенную версию Краткого опросника оценки выраженности боли из 15 пунктов (Cleeland and Ryan 1994, Ann Acad Med; 23(2):129-59). Она используется для оценки степени тяжести боли и влияния боли на повседневные функции. Наряду со шкалами для степени тяжести боли, локализации боли, обезболивающих препаратов и степени обезболивания за последние 24 часа, BPI-SF также включает шкалу помех из семи пунктов для оценки степени, в которой боль мешает общей активности, настроению, ходьбе, работе, отношениям с другими, сну и удовольствию от жизни. Она имеет 10-балльный вариант ответа от 0 (не мешает) до 10 (полностью препятствует). Общий балл находится в диапазоне от 0 до 10, где более низкие оценки соответствуют меньшей боли.

FSIQ-RMS™ или Опросник по симптомам и воздействию усталости - рецидивирующий рассеянный склероз позволяет измерить интенсивность и воздействие симптомов усталости при RMS. Этот надежный и применимый инструмент состоит из 20 пунктов, объединенных в два домена симптомов (энергия, мышечная слабость) и семь доменов воздействия (повседневная деятельность, когнитивная деятельность, эмоции, воздействие на физическое состояние, уход за собой, сон и воздействие на социальную сферу). Период оценки: 24 часа для фиксации симптомов и 7 дней для фиксации воздействия. Баллы FSIQ-RMS по доменам и субдоменам. Общий балл находится в диапазоне от 0 до 100, где более высокий балл соответствует большей усталости (Hudgens et al. 2019, Value Health; 22:453-466).

HUI-III™ или Health utilities index ® представляет собой семейство общих профилей здоровья и систем, основанных на предпочтениях, предназначенных для осуществления измерения в отношении состояния здоровья, регистрации данных по качеству жизни, связанному со здоровьем, и получения баллов по полезности (Feeny et al. 2002, Med Care; 40(2):113-28). С помощью HUI-III измеряют восемь областей домена HRQoL, включая зрение, слух, речь, передвижение/подвижность, боль, ловкость, эмоции и когнитивная деятельность. В этом исследовании будет реализована версия с самооценкой, и участники будут отвечать о своем «обычном здоровье» с точки зрения периода оценки. Ответы на опросники HUI позволяют распределить ответы к конкретным уровням. HUI-III имеет следующие домены (уровни для каждого домена):

- зрение (6 уровней);
- слух (6 уровней);
- речь (5 уровней);
- передвижение (6 уровней);
- ловкость (6 уровней);
- эмоции (5 уровней);
- когнитивная деятельность (6 уровней);
- боль (5 уровней).

Снижение балла по NUI означает, что состояния ухудшились.

Средство терапии, модифицирующее течение заболевания (DMT)

Термин «средство терапии, модифицирующее течение заболевания» используется потому, что до сих пор не существует метода излечения рассеянного склероза (MS), но для лечения MS одобрено несколько лекарственных средств, модифицирующих течение заболевания (DMD). Как правило, средства DMT для лечения RMS снижают частоту возникновения и/или тяжесть рецидивов. Таким образом, средства DMT не устраняют RMS у пациентов, но они могут уменьшить количество рецидивов и их серьезность. DMT включает без ограничения лечение с помощью DMD, таких как бета-интерферон, глатирамера ацетат, терифлуномид, митоксантрон, диметилфумарат, кладрибин, финголимод, сипонимод, понесимод, алемтузумаб, даклизумаб, натализумаб, офатумумаб, окрелизумаб и ритуксимаб.

В соответствии с настоящим изобретением DMT имеет “недостаточную эффективность”, если оно не останавливает или не замедляет должным образом прогрессирование заболевания. Это имеет место, например, если у пациента, принимающего DMT, наблюдаются признаки активности заболевания, такие как рецидивы или очаги поражения.

В соответствии с настоящим изобретением “непереносимость” DMT связана с наличием нежелательных явлений, таких как головная боль, головокружение, тошнота, инфекции (такие как опоясывающий лишай), макулярный отек, инфузионные реакции или рецидивирующие инфекции.

Средство терапии, обеспечивающее истощение по В-клеткам

Термин “средство терапии, обеспечивающее истощение по В-клеткам”, используемый в данном документе, относится к любому средству терапии, приводящему к истощению по В-клеткам, включая средства терапии, обеспечивающие истощение по CD19-/CD20, такие как средства терапии на основе mAb к CD20, обеспечивающие истощение по В-клеткам. В частности, при использовании средств терапии на основе mAb к CD20, обеспечивающих истощение по В-клеткам, истощение по В-клеткам достигается введением моноклональных антител, которые нацелены на В-клетки, экспрессирующие CD20, таких как алемтузумаб, даклизумаб, натализумаб, офатумумаб, окрелизумаб и ритуксимаб.

Нагрузочная доза

Нагрузочная доза представляет собой начальную дозу лекарственного средства, предпочтительно начальную более высокую дозу, которая может предоставляться в начале курса лечения (например, DMT) перед последующей поддерживающей дозой, предпочтительно снижаясь до более низкой поддерживающей дозы.

Неврологически стабильный

Клиническое состояние, характеризующееся отсутствием изменений психического статуса или уровня сознания. Это состояние может предусматривать контроль над судорогами; отсутствие новых неврологических дефектов, например афазии, атаксии,

дизартрии, пареза, паралича, потери поля зрения или слепоты, и определяется как неврологическая стабильность.

Рикошет

Тяжелая повторная активация заболевания после отмены DMT, которая превышает исходный уровень у пациента до приема DMT, считается "рикошетным" событием. См. Barry et al., Fingolimod Rebound: A Review of the Clinical Experience and Management Considerations. *Neurol Ther* (2019) 8:241-250.

Обострение заболевания на фоне лечения

Для целей настоящего изобретения обострение заболевания на фоне лечения определяется как:

- по меньшей мере один документально подтвержденный рецидив в течение предыдущего года или два рецидива в течение предыдущих двух лет,
- наличие по меньшей мере одного Gd⁺ очага поражения на снимке МРТ в течение последних 12 месяцев и/или
- наличие новых или увеличенных очагов поражения T2 в течение последних 12 месяцев на фоне DMT.

Термин "ингибитор В-клеток", используемый в данном документе, в общем может относиться к любому веществу, которое обеспечивает отмену, снижение или ослабление биологических функций В-клеток. Ингибитор В-клеток может прерывать пути передачи сигнала, которые необходимы для биологических функций В-клеток, например секреции цитокинов или ответов на цис- и/или транс-стимуляцию. Ингибитор В-клеток может также препятствовать образованию В-клеток из стволовых клеток/клеток-предшественников или отрицательно влиять на их созревание. Более того, ингибитор В-клеток может действовать путем подавления перекрестных взаимодействий с другими популяциями клеток, такими как Т-клетки. В качестве альтернативы ингибитор В-клеток может обеспечивать истощение по В-клеткам путем секвестрации (например, в лимфоидных тканях, таких как селезенка) или лизиса, например, посредством CDC, ADCC, фагоцитоза или других процессов. Несколько подмножеств В-клеток могут экспрессировать CD20.

В-клетка при использовании в данном документе может относиться к типу лейкоцитов подтипа лимфоцитов. В-клетки функционируют в компоненте гуморального иммунитета адаптивной иммунной системы, секретировав антитела, такие как иммуноглобулины (например, IgG). Кроме того, В-клетки могут презентировать антигены и секретировать цитокины. В-клетки, в отличие от Т-клеток и естественных клеток-киллеров, экспрессируют рецепторы В-клеток (BCR) на своей клеточной мембране. BCR позволяют В-клетке связываться со специфическим антигеном, против которого она инициирует гуморальный иммунный ответ.

Термин "ингибитор Т-клеток", используемый в данном документе, может относиться к любому веществу, которое обеспечивает отмену, снижение и/или ослабление

биологических функций Т-клеток. Ингибитор Т-клеток может прерывать пути передачи сигнала, которые необходимы для биологических функций Т-клеток, например секреции цитокинов или ответов на цис- и/или транс-стимуляцию. Ингибитор Т-клеток может также препятствовать образованию Т-клеток из стволовых клеток/клеток-предшественников или отрицательно влиять на их созревание. Более того, ингибитор Т-клеток может действовать путем подавления перекрестных взаимодействий с другими популяциями клеток, такими как В-клетки. В качестве альтернативы ингибитор Т-клеток может обеспечивать истощение по Т-клеткам путем секвестрации (например, в лимфоидных тканях, таких как селезенка) или лизиса, например, посредством CDC, ADCC, фагоцитоза или других процессов.

Т-клетка при использовании в данном документе может относиться к типу лимфоцитов, которые развиваются в вилочковой железе. Т-клетки можно отличить от других лимфоцитов по наличию Т-клеточного рецептора на поверхности клетки.

Примеры

Пример 1

Ингибитор тирозинкиназы Брутона (ВТК) LOU064 при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите, индуцированном посредством HumanMOG

Не существует известного MS-подобного заболевания природного происхождения у грызунов или приматов, отличных от человека. После иммунизации восприимчивых линий грызунов посредством белков, представляющих собой специфичный для ЦНС миелин, эмульгированных в полном адьюванте Фрейнда (CFA), формируется модель индуцированного заболевания. Экспериментальный аутоиммунный энцефалит (ЕАЕ) воспроизводит многие патологические фенотипы MS с фокальными демиелинизирующими очагами поражения белого вещества ЦНС. У мыши C57BL/6 существуют два варианта ЕАЕ, индуцированного миелин-олигодендроцитарным гликопротеином (MOG), в зависимости от того, используются ли последовательности рекомбинантного белка человека (HumanMOG) или крысы (RatMOG) (Lyons J.A. et al. (1999) *European Journal of Immunology* 29:3432-3439; Oliver A.R. et al. (2003) *J Immunology* 171: 462-468). Незначительные различия в аминокислотных остатках приводят к тому, что ЕАЕ, индуцированный посредством HumanMOG, зависит исключительно от В-клеток в качестве APC, тогда как ЕАЕ, индуцированный посредством RatMOG, не зависит от В-клеток и требует дендритных клеток в качестве доминантной популяции APC (Lyons et al. 1999; Molnarfi N. et al. (2013) *Journal of Experimental Medicine* 210(13):2921-2937).

При ЕАЕ, индуцированном посредством HumanMOG, ингибитор ВТК, представляющий собой LOU064, вводили два раза в день (b.i.d.) по 3 мг/кг или 30 мг/кг с интервалами по 12 ч. Профилактическое введение дозы LOU064 начинали за 6 часов до иммунизации с помощью MOG/CFA и продолжали до окончания исследования.

ЕАЕ оценивали с использованием балльной системы, представленной в таблице 1. Клинические показатели и значения веса тела оценивали ежедневно на протяжении всего эксперимента. Перед началом обработки животных рандомизировали таким образом,

чтобы все группы были сопоставимы по клиническому профилю и значениям веса тела.

Таблица 1. Критерии балльной оценки ЕАЕ

Балл	Наблюдение
0	Нормальны внешний вид/ отсутствуют поддающиеся выявлению признаки заболевания
0,5	Вялость движений дистального участка хвоста
1	Полный паралич хвоста
1,5	Слабость задних конечностей – положительный результат в тесте с решеткой
2	Односторонний частичный паралич задних конечностей – нарушенный рефлекс переворачивания
2,5	Двусторонний частичный паралич задних конечностей
3	Полный двусторонний паралич задних конечностей
3,5	Слабость четырех конечностей и полный двусторонний паралич задних конечностей
4	Тетраплегия / агональное состояние
5	Смерть от ЕАЕ

В соответствии с нормативными требованиями в отношении животных, гуманное отношение предусматривало регистрацию конечных точек для мышей с ЕАЕ при балле 3 (>7 дней), балле 3,5 (>3 дней) или незамедлительно при достижении балла 4.

LOU064 (30 мг/кг p.o. b.i.d.) подавлял индуцированную воспалением кахексию и значительно уменьшал клинические симптомы ЕАЕ (фигура 1). Соединение хорошо переносилось всеми животными.

Дополнительный анализ показал, что эффективность LOU064 была связана со снижением частоты возникновения ЕАЕ, при этом множество животных были полностью защищены от заболевания (фигура 2).

Ингибирование ВТК также обеспечивало снижение группового балла ЕАЕ (пиковое значение для неврологического паралича) и общее время заболевания в течение всего экспериментального периода (фигура 3).

Концентрации LOU064, присутствующие в крови через 1, 5 и 8 часов после введения дозы соединения b.i.d., показаны в таблице 2. Для величины воздействия в крови показано ожидаемые уровни в момент времени 1 час с быстрым снижением к моментам времени 5 и 8 часов, а также пропорциональное дозе увеличение при введении дозы от 3 до 30 мг/кг b.i.d. Уровни соединения в общем гомогенате головного мозга являются очень низкими и в основном обнаруживаются в ранний момент времени. Аналогично, уровни в спинномозговой жидкости (CSF) являются низкими.

Таблица 2. Уровни LOU064 в тканях мыши

	3 мг/кг			30 мг/кг		
	1 ч	5 ч	8 ч	1 ч	5 ч	8 ч
Кровь (нМ)	28,2 ± 11,7	0,4 ± 0,04	0,2 ± 0,07	371,2 ± 149	19,4 ± 9,9	3,4 ± 2,3
Головной мозг (пмоль/г)	2,3 ± 2,2	< 0,5	< 0,5	13,5 ± 6,0	0,7 ± 0,02	< 0,5
CSF (нМ)	3,0 ± 3,3	0,5 ^a	< 0,5	8,4 ±	0,5 ^a	< 0,5

Уровни LOU064 в крови, головном мозге и CSF после перорального введения доз 3

и 30 мг/кг b.i.d. LLOQ составлял 0,2 нМ в крови, 0,5 пмоль/г в гомогенате головного мозга и 0,5 нМ в CSF. Показаны средние значения \pm SD по 4 животным для момента времени 1 ч и по 3 животным в моменты времени 5 и 8 ч. Там, где они обозначены буквой ^a, значения были получены для одного животного из трех, уровень которого превышал LLOQ.

Занятость ВТК в селезенке определяли через 1, 5 и 8 часов после перорального введения дозы LOU064 b.i.d. (фигура 4). Занятость ВТК в селезенке была максимальной для обеих доз, и для нее было показано постепенное снижение после дозы 3 мг/кг с более устойчивой занятостью после дозы 30 мг/кг. Эти уровни занятости ВТК были сопоставимы с другими исследованиями, проведенными на мышах.

Занятость ВТК в паховых лимфатических узлах показана на фигуре 5. Занятость ВТК была максимальной для обеих доз, и для нее было показано постепенное снижение после дозы 3 мг/кг с более устойчивой занятостью после дозы 30 мг/кг. Эти уровни занятости ВТК были сопоставимы с другими исследованиями, проведенными на мышах с LOU064.

Занятость ВТК оценивали в гомогенатах головного мозга, которые были подготовлены для анализа величины воздействия соединения (фигура 6). Группа, получавшая дозу 30 мг/кг b.i.d. Для LOU064 была показана максимальная занятость ВТК со снижением в течение интервала введения доз. Доза 3 мг/кг приводила лишь к минимальной занятости ВТК в момент времени 1 час. Вариабельность занятости ВТК головного мозга может быть связана с тем, что анализ проводили на оставшихся гомогенатах, приготовленных для оценки уровня соединения.

Анализ *ex vivo* MOG-специфического гуморального иммунного ответа в сыворотке крови выявил лишь небольшое, но статистически значимое снижение уровней IgM и IgG (фигура 7). В модели EAE, индуцированного посредством HumanMOG, ответ в виде (ауто)антител является слабопатогенным. Несоответствие между эффективностью по баллу EAE и лишь незначительной модуляцией антител позволяет предположить, что презентация антигена В-клетками является ключевым фактором нейровоспалительного процесса.

Используя короткий восьмидневный протокол для EAE (до начала заболевания), исследовали механизмы иммунного примирования на модели с HumanMOG. Профилактическая обработка с помощью LOU064 была ассоциирована с улучшением набора веса, позволяя предположить, что индуцированная воспалением кахексия на данной модели подвергалась модулированию (фигура 8). Как описано ранее, ни в одной из групп, получавших дозу, не наблюдалось нежелательных явлений.

Ответы в виде пролиферации в ходе вторичного иммунного ответа, индуцированные MOG *ex vivo*, исследовали с использованием выделенных спленоцитов и клеток дренирующих лимфатических узлов, собранных в день 8 после иммунизации. Обработка *in vivo* приводила к дозозависимому снижению пролиферации в обоих компартментах иммунных клеток (фигура 9). Напротив, обработка *in vivo* не влияла на стимуляцию клеток лимфатических узлов связанными с планшетом поликлональными

антителами к CD3/CD28. Эти данные свидетельствуют о специфическом подавлении антигенпрезентирующей функции В-клеток, а не о широкой иммуносупрессии.

Анализ *ex vivo* выделенных спленоцитов, клеток лимфатических узлов и крови не выявил значимых изменений в общих популяциях В-клеток (фигура 10). Анализ CD4⁺ Т-клеток показал, что после обработки с помощью LOU064 уменьшилась только популяция Th17, в то время как Th1 и регуляторные Т-клетки остались без изменений.

Для дальнейшего выяснения того, была ли эффективность ингибитора ВТК напрямую связана со снижением антигенпрезентирующей функции В-клеток, соединения тестировали на модели ЕАЕ, индуцированного рекомбинантным RatMOG. Этой модели ЕАЕ присущи многие из характеристик ЕАЕ, индуцированного рекомбинантным HumanMOG, при этом MOG-специфические Т-клетки, инфильтрируют ЦНС и приводят к неврологическому параличу. Однако ЕАЕ, индуцированный посредством RatMOG, не зависит от В-клеток, и дендритные клетки являются доминирующим типом антигенпрезентирующих клеток. Таким образом, можно предсказать, что ингибиторы ВТК не будут иметь значительной эффективности при ЕАЕ, индуцированном посредством RatMOG, если только медикаментозное лечение не будет ассоциировано с более широкой, неспецифической иммуносупрессией. Помимо LOU064, который применяли в дозах 1 мг/кг, 3 мг/кг и 10 мг/кг, тестировали эталонное соединение ибрутиниб. Циклоспорин А (CsA) действовал как положительный контроль для непосредственной иммуносупрессии Т-клеток. При использовании короткого восьмидневного протокола ЕАЕ (до манифестации заболевания), с помощью которого исследовали механизмы иммунного примирования на модели с RatMOG, не наблюдалось нежелательных явлений при применении любого из ингибиторов ВТК. Ответы в виде пролиферации в ходе вторичного иммунного ответа, индуцированные MOG *ex vivo*, исследовали с использованием выделенных спленоцитов, собранных в день 8 после иммунизации. Обработка ингибитором ВТК *in vivo* не оказывала эффекта в отношении ответов в ходе вторичного иммунного ответа (фигура 12). Напротив, CsA обеспечивал выраженное подавление пролиферации Т-клеток в ходе вторичного иммунного ответа. Эти данные позволяют предположить, что иммунная модуляция, опосредованная ингибированием ВТК, является высокоселективной и напрямую связана с В-клетками, действующими в качестве антигенпрезентирующих клеток в фазе (ауто)иммунного примирования.

Заключение и обсуждение

В этих исследованиях использовали две разные модели ЕАЕ на мышах C57BL/6. Модель ЕАЕ, индуцированного рекомбинантным HumanMOG, является зависимой от В-клеток и чувствительной к истощению по В-клеткам с помощью антител к CD20, тогда как модель на основе ЕАЕ, индуцированного посредством RatMOG, является независимой от В-клеток, при этом в качестве ключевых антигенпрезентирующих клеток действуют дендритные клетки.

Было продемонстрировано, что низкомолекулярный необратимый (ковалентный)

ингибитор ВТК, представляющий собой LOU064, неожиданно оказался высокоэффективным в подавлении развития ЕАЕ, индуцированного посредством HumanMOG. Эффективность в отношении клинического показателя и индуцированной воспалением кахексии была тесно связана с устойчиво высокими уровнями занятости ВТК в тканях. С технической точки зрения, экспериментальные данные согласуются с тем, что подавление зависимой от В-клеток презентации (ауто)антигена во время фазы иммунного примирования приводит к снижению частоты появления патогенных Th17 клеток. Несоответствие между значительной эффективностью в отношении клинического показателя и незначительными величинами снижения количества (ауто)антител позволяет предположить, что это не является критическим механизмом патогенеза.

Данные по модели ЕАЕ, индуцированного RatMOG, показали, что ингибирование ВТК не влияет на (ауто)иммунные Т-клеточные ответы в фазе иммунного примирования. Таким образом, можно заключить, что эффективность ингибитора ВТК (LOU064) не является результатом широкой (неселективной) иммуносупрессии.

В заключение, представляется удивительным, что ковалентный ингибитор ВТК, представляющий собой LOU064, продемонстрировал высокоселективный механизм действия, что неожиданно привело к исключительной и превосходной эффективности в отношении патогенного процесса, который, как известно, очень важен для лечения рассеянного склероза у человека.

Пример 2

Ингибитор тирозинкиназы Брутона (ВТК), представляющий собой LOU064, при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите, индуцированном посредством RatMOG

Сообщалось, что фармакологическое ингибирование ВТК или дефицит ВТК, обеспеченный методами генетики, обеспечивают улучшение в отношении доклинического ЕАЕ у мышей, позволяя предположить, что ингибитор ВТК может достигать эффективности благодаря своим эффектам в отношении В-клеток, а также в отношении миелоидных клеток (Torke S. & Weber M.S. (2020) Expert Opinion on Investigational Drugs 29:1143-1150; Mangla A. et al. (2004) Blood 104(4):1191-7 и пример 1). В то время как предыдущее исследование с LOU064 было сосредоточено на модели экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЕАЕ), обусловленной В-клетками (пример 1), настоящее исследование дополнительно расширяет эти доказательства, показывая, что LOU064 демонстрирует эффективность при независимом от В-клеток RatMOG-ЕАЕ, вероятно, за счет его действия на миелоидные клетки.

Обработка с помощью LOU064 уменьшала развитие ЕАЕ

При ЕАЕ, индуцированном посредством RatMOG, ингибитор ВТК, представляющий собой LOU064, вводили два раза в день (b.i.d.) по 30 мг/кг с интервалами 8/16 часов. Введение дозы LOU064 начинали за 4 часа до иммунизации с помощью MOG/CFA и продолжали два раза в день до окончания исследования. LOU064 подавлял индуцированные воспалением клинические симптомы ЕАЕ и кахексию (фигура 13).

Соединение хорошо переносилось всеми мышами.

Дополнительный анализ показал, что эффективность LOU064 была ассоциирована со снижением заболеваемости ЕАЕ и отсроченным началом, при этом множество мышей были полностью защищены от заболевания (фигура 14) вплоть до завершения исследования (p -значение=0,018).

Ингибирование ВТК также значительно снижало групповые баллы ЕАЕ (пиковое значение для неврологического паралича, p -значение=0,069) и общее бремя заболевания (p -значение=0,013) в течение всего экспериментального периода (фигура 15).

Обработка с помощью LOU064 достигала своей фармакологической мишени

На фигуре 16 показана конечная занятость ВТК в селезенке, крови и головном мозге, образцы которых были взяты у мышей в день завершения, через 16 ч после последней дозы. Остаточные уровни занятости ВТК в селезенке и крови находились в диапазоне, характерном для максимальной занятости ВТК при пиковых величинах воздействия LOU064. Было показано, что на нее влияет повторный синтез свободной ВТК после уменьшения системного воздействия LOU064 (Angst et al. 2020). Эти уровни занятости ВТК были сопоставимы с предыдущими исследованиями, проведенными на мышах.

При оценке в гомогенатах головного мозга для занятости ВТК были показаны промежуточные уровни, позволяя предположить, что значимое (p -значения $<0,001$ для селезенки, крови и головного мозга), но, возможно, субмаксимальное значение занятости ВТК в головном мозге было достигнуто при пиковой величине воздействия в крови.

Обработка с помощью LOU064 не повлияла на уровни аутоантител

На фигуре 17 показаны уровни MOG-специфических аутоантител в сыворотке крови через 16 часов после последнего введения дозы в день завершения (день 21). У иммунизированных мышей, обработанных либо средой-носителем, либо LOU064, уровни MOG-специфических аутоантител, общее количество подклассов IgM и IgG были заметно выше по сравнению с мышами, не подвергавшимися воздействию. Обработка с помощью LOU064 не влияла на ответы в виде MOG-специфических IgM и IgG в сыворотке крови по сравнению с мышами, обработанными средой-носителем. Эти результаты соответствуют результатам, наблюдаемым в модели ЕАЕ с MOG человека, как описано в примере 1 выше.

Обработка с помощью LOU064 вызывала тенденцию к снижению уровней NF-L в сыворотке крови

На фигуре 18 показаны уровни NF-L в сыворотке крови. У иммунизированных мышей, обработанных средой-носителем или LOU064, средний уровень NF-L был заметно выше по сравнению с мышами, не подвергавшимися воздействию. Более того, для группы, обработанной средой-носителем, показано значительную корреляцию между увеличением клинического показателя и уровнями NF-L в сыворотке крови (p -значение=0,0006). Это наблюдалось в группе, обработанной с помощью LOU064, с незначительной тенденцией к более низкому среднему уровню NF-L по сравнению с

группой, обработанной средой-носителем.

Доказательство экспрессии ВТК в тканях с помощью ИНС

На фигуре 19 показаны репрезентативные примеры ИНС-окрашивания в отношении экспрессии ВТК в лимфатических узлах (положительный контроль; А и В) и в головном мозге мышей, не подвергавшихся воздействию (С и D). У этих мышей ВТК экспрессируется в фолликулах В-клеток в лимфатических узлах (А), в частности, в некоторых диссеминированных клетках паракортикальной области лимфатических узлов (В). В головном мозге мышей, не подвергавшихся воздействию, в частности в мозолистом теле, ВТК обнаружить не удалось (С и D).

Заключение и обсуждение

Основная цель данного исследования заключалась в оценке эффективности мощного и селективного ковалентного ингибитора ВТК (LOU064) в независимой от В-клеток модели ЕАЕ. В этом исследовании LOU064 давали в дозе, составляющей 30 мг/кг b.i.d., при которой была продемонстрирована полная занятость ВТК в крови и селезенке, но только частичная занятость ВТК в головном мозге.

Полученные результаты показывают, что LOU064 действительно эффективно снижал степень тяжести ЕАЕ, индуцированного посредством RatMOG, не влияя при этом на параллельные ответы в виде IgM и IgG.

В целом эти результаты показывают терапевтическую эффективность LOU064 независимо от его способности ингибировать ВТК в В-клетках. Поскольку известно, что миелоидные клетки, такие как макрофаги, нейтрофилы или тучные клетки, тоже экспрессируют ВТК (Torke et al., 2020), в используемой модели можно предположить ключевую патогенную роль этих клеток. Это согласуется с недавними доклиническими и клиническими наблюдениями, четко указывающими на благоприятные эффекты целенаправленного воздействия на периферические миелоидные клетки для контроля воспаления ЦНС (Ifergan I. and Miller S.D. (2020) *Front Immunology* 11:571897).

Хотя движущей силой эффективности LOU064 в настоящем исследовании с использованием модели ЕАЕ с RatMOG может быть ингибирование экспрессирующих ВТК периферических иммунных клеток миелоидного типа, таких как макрофаги, неожиданно было показано, что уровень занятости ВТК, обнаруженный в головном мозге, также может вносить вклад в общую эффективность лечения. Поскольку гистологический анализ не выявил экспрессии ВТК в головном мозге здоровых мышей, можно сделать вывод, что уровень занятости ВТК, измеренный в головном мозге мышей с ЕАЕ, отражает индуцированную посредством ЕАЕ инфильтрацию ЦНС клетками, экспрессирующими ВТК.

Тот факт, что настоящее исследование не показывает влияния LOU064 на индуцированные посредством ЕАЕ ответы в виде IgM/IgG, согласуется с предыдущими наблюдениями в отношении уровня ответа в виде антител к MOG (пример 1). В заключение, для ковалентного ингибитора ВТК, представляющего собой LOU064, неожиданно была показана исключительная эффективность в отношении патогенного

процесса, который, как известно, очень важен для лечения рассеянного склероза у людей. Особенно преимущественные результаты были неожиданно достигнуты для ЕАЕ при дозировке, составляющей 30 мг/кг b.i.d., преобразованной в дозу для человека, составляющую 100 мг b.i.d.

Пример 3. Способность LOU064 проникать в головной мозг

Измерение способности к пассивному проникновению с использованием монослоев клеток MDCK с нокаутом P-гр псовых (MDCK-LE V2)

Для оценки способности к пассивному проникновению у потенциальных лекарственных средств в контексте желудочно-кишечной абсорбции использовали клеточный анализ. Линию клеток MDCK, в которой был нокаутирован эндогенный ген Mdr1 псовых (сMdr1), кодирующий P-гр, выращивают с образованием монослоев на 96-луночном планшете с системой Transwell. Соединения загружают в кассетах по три в концентрации 10 мкМ каждое в апикальный отдел и после периода инкубации продолжительностью два часа количество соединения, появляющегося в базальной камере, количественно определяют с помощью тандемной масс-спектрометрии.

В частности, линия клеток MDCK была создана путем нокаутирования эндогенного гена Mdr1 псовых (сMdr1). Субклон этой линии клеток использовали для установления связи способности к пассивному проникновению с долей, абсорбируемой в кишечнике человека, с использованием набора из 37 доступных для приобретения соединений, для которых была известна абсорбируемая фракция. Анализ позволяет оценить долю, абсорбируемую у человека, на основе значения Papp, измеренного в ходе анализа.

Способы

Образцы подвергали анализу методом RapidFire/MS/MS и анализу методом LC/MS/MS. Условия Rapidfire и LC/MS/MS указаны ниже.

Масс-спектрометр: Sciex QTRAP5500

Автоматический дозатор: Shimadzu SIL-30ACmp

Насос системы HPLC: Shimadzu LC-30AD

Колонка: Phenomenex Kinetex Polar C18, 2,1×30 мм, 2,6 мкм

Температура термостата: 50°C

Объем вводимой пробы: вводимая проба 2 мкл

Подвижная фаза А: вода, содержащая 0,1% (об./об.) муравьиной кислоты

Подвижная фаза В: ацетонитрил, содержащий 0,1% (об./об.) муравьиной кислоты и 4% (об./об.) воды

Градиент: Время	% А	% В	Поток (мкл/мин)
0	98	2	800
0,2	98	2	800
1,0	40	60	800
1,3	0	100	800

1,7	0	100	800
1,71	98	2	800
1,95	98	2	800

Детектор: параметры SCIEX API5500 QTrap

Источник: ESI

Напряжение ионного распыления: 4500 В (-4500 В в отрицательном режиме)

Источник ионов, газ 1: 60 фунт/кв. дюйм

Источник ионов, газ 2: 40 фунт/кв. дюйм

Температура: 450°C

Газовая завеса: 30 фунт/кв. дюйм

Газ для соударений: 9 фунт/кв. дюйм

Все параметры MS, такие как исходная масса, масса продукта, потенциал декластеризации (DP), энергия столкновения (CE) и другие, получают с помощью приложения для автоматической настройки DiscoveryQuant-Optimize. Продолжительность сканирования составляет 0,025 с.

Более быстрой альтернативой классическому фронтальному прибору для HPLC является система RapidFire 360 (Agilent Technologies), оснащенная картриджем C4 (RFCP4A). Устройство подключается к тандемному масс-спектрометру аналогично HPLC. Rapid Fire выполняет твердофазную экстракцию с минимальной хроматографией. Этот подход намного быстрее, чем традиционная LC, но LLOQ может увеличиться, а некоторые соединения плохо удерживаются на картридже, поэтому некоторые соединения, возможно, придется повторно обработать с использованием классического подхода на основе LC.

Параметры RapidFire

RapidFire: параметры Agilent RF360

Продолжительность цикла RapidFire:

распыление: 500 мс (~20 мкл)

Загрузка/промывка: 4000 мс, со скоростью потока 1,5 мл/мин с использованием 0,1% (об./об.) муравьиной кислоты в воде

Элюирование: 3000 мс, со скоростью потока 1,0 мл/мин с использованием 0,1% (об./об.) муравьиной кислоты в ацетонитриле

Повторное уравнивание: 500 мс, со скоростью потока 1,25 мл/мин с использованием 0,1% (об./об.) муравьиной кислоты в воде

Тип картриджной колонки RapidFire: C4 (RFCP4A)

Результаты

Для LOU064 была обнаружена высокая способность к проникновению с $P_{app}=37,3$ с высоким выходом в анализе с MDCK в системе Transwell.

Пример 4

Безопасность LOU064

Безопасность LOU064 была протестирована в фармакокинетических исследованиях

фазы I и фазы II и клинических фармакологических исследованиях с участием здоровых добровольцев, а также в клинических исследованиях фазы II/фазы III, проведенных с пациентами, страдающими от других проявлений, отличных от MS, в частности, хронической спонтанной крапивницы (CSU) и синдрома Шегрена (SjS).

Безопасность при кратковременном применении для LOU064 в клиническом исследовании фазы I

Безопасность при кратковременном применении для LOU064 в виде однократной дозы или в виде многократных доз, принимаемых на протяжении вплоть до 18 дней, с охватом диапазона доз от 0,5 мг до 600 мг, принимаемых на протяжении вплоть до 18 дней, и дополнительно доз 100 и 200 мг b.i.d., принимаемых на протяжении вплоть до 12 дней, показана в клинических исследованиях фазы I (Kaul, M. et al. (2021). Remibrutinib (LOU064): A selective potent oral BTK inhibitor with promising clinical safety and pharmacodynamics in a randomized phase I trial. *Clinical and Translational Science*. 10.1111/cts.13005).

Сводные данные по безопасности и переносимости в исследовании фазы 2b у субъектов с CSU (промежуточные результаты)

В исследовании по определению диапазона доз, проводимом на субъектах с CSU, проходят тестирование следующие дозы: 10, 35 и 100 мг q.d., а также 10, 25 и 100 мг b.i.d. и плацебо в течение 12 недель.

LOU064 хорошо переносился во всем диапазоне доз, при этом большинство АЕ были легкими по степени тяжести и не характеризовались очевидным дозозависимым паттерном. Серьезные АЕ и наиболее частые АЕ перечислены в таблице 3 с указанием предпочтительного термина и основного класса по поражению органов и систем органов. В целом у 58,1% пациентов, принимавших какую-либо дозу LOU064, наблюдалось по меньшей мере одно АЕ: у 38,6% пациентов, принимавших LOU064, имели место легкие АЕ, у 16,9% пациентов имели место умеренные АЕ и у 2,6% пациентов имели место тяжелые АЕ. В группе плацебо у 42,9% пациентов было зарегистрировано по меньшей мере одно АЕ: у 33,3% пациентов с плацебо имели место легкие АЕ, у 9,5% имели место умеренные АЕ, и у 0,0% имели место тяжелые АЕ. В ходе данного исследования не было случаев летального исхода. Серьезные АЕ были зарегистрированы у пяти пациентов (1,9%), получавших какую-либо дозу LOU064, по сравнению с отсутствием таких пациентов (0,0%) среди получавших плацебо: у одного пациента был зарегистрирован абсцесс почки, что привело к прекращению лечения (в день 29, 25 мг b.i.d.); у одного пациента было зарегистрировано ухудшение лимфаденопатии (присутствовавшей до начала исследования, но ухудшившейся в день 12, 10 мг q.d.); уретролитиаз был зарегистрирован у одного пациента в течение периода последующего наблюдения без лечения (день 87, 10 мг b.i.d.), и у двух пациентов наблюдалось обострение/ухудшение их CSU (у одного в день 30, что привело к прекращению приема 10 мг b.i.d., и у одного в день 5, 25 мг b.i.d.).

Инфекции и инвазии были наиболее распространенными АЕ при определении

основного класса по поражению органов и систем органов: 24,0% пациентов, получавших какую-либо дозу LOU064, по сравнению с 21,4% пациентов, получавших плацебо. Головная боль (9,7% при любой дозе LOU064 по сравнению с 14,3% плацебо) и назофарингит (8,6% по сравнению с 7,1%) были наиболее часто регистрируемыми АЕ (встречавшимися у $\geq 10\%$ пациентов в любой группе лечения).

В целом, у 2,6% пациентов (n=7) при любой дозе LOU064 возникло АЕ, приводящее к прекращению приема исследуемого лекарственного средства, по сравнению с 0,0% пациентов, принимавших плацебо (n=0). Никаких значимых результатов лабораторных исследований, включая количество клеток крови, не было получено ни в одной из экспериментальных групп во время исследования.

Анализ данных лабораторных исследований не выявил значимых отклонений. В общей сложности имели место три общих терминологических критерия для АЕ-явлений степени 3 (ни одного выше), все они протекали бессимптомно и разрешались без медицинского вмешательства. У одного пациента наблюдалось повышение креатинина на неделе 8 после начала кетогенной диеты (10 мг q.d.); значения нормализовались после прекращения диеты. На неделе 12 имело место одно снижение числа нейтрофилов у пациента с лимфоцитопенией в анамнезе (35 мг q.d.); значения улучшились в течение периода последующего наблюдения без лечения. На неделе 8 имело место одно повышение уровня аланинаминотрансферазы (100 мг q.d.); значения вернулись к норме во время лечения.

Таблица 3. Сводные данные по безопасности в отношении нежелательных явлений, возникших в ходе лечения, серьезных нежелательных явлений и величине воздействия

	LOU064 10 мг q.d. N=44 n (%)	LOU064 35 мг q.d. N=44 n (%)	LOU064 100 мг q.d. N=47 n (%)	LOU064 10 мг b.i.d. N=44 n (%)	LOU064 25 мг b.i.d. N=43 n (%)	LOU064 100 мг b.i.d. N=45 n (%)	Любая доза LOU064 N=267 n (%)	Плацебо N=42 n (%)
Продолжительность воздействия ≥ 12 недель	38 (86,4)	38 (86,4)	39 (83,0)	37 (84,1)	38 (88,4)	31 (68,9)	221 (82,8)	34 (81,0)
Субъекто-лет	10,1	10,1	10,9	9,8	9,8	9,3	59,9	9,5
Пациенты с SAE	1 (2,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (4,5)	2 (4,7)	0 (0,0)	5 (1,9)	0 (0,0)

Лимфаденопатия (РТ)	1 (2,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (0,4)	0 (0,0)
Абсцесс почки (РТ)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,3)	0 (0,0)	1 (0,4)	0 (0,0)
Уретролитиаз (РТ)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (0,4)	0 (0,0)
Хроническая спонтанная крапивница (РТ)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,3)	1 (2,3)	0 (0,0)	2 (0,7)	0 (0,0)
Пациенты с по меньшей мере одним АЕ	29 (65,9)	23 (52,3)	27 (57,4)	21 (47,7)	26 (60,5)	29 (64,4)	155 (58,1)	18 (42,9)
Легкие	22 (50,0)	16 (36,4)	18 (38,3)	9 (20,5)	16 (37,2)	22 (48,9)	103 (38,6)	14 (33,3)
Умеренные	7 (15,9)	6 (13,6)	8 (17,0)	10 (22,7)	9 (20,9)	5 (11,1)	45 (16,9)	4 (9,5)
Тяжелые	0 (0,0)	1 (2,3)	1 (2,1)	2 (4,5)	1 (2,3)	2 (4,4)	7 (2,6)	0 (0,0)
АЕ по предпочтительному термину ($\geq 10\%$ в любой группе лечения)								
Головная боль	1 (2,3)	7 (15,9)	4 (8,5)	3 (6,8)	6 (14,0)	5 (11,1)	26 (9,7)	6 (14,3)
Назофарингит	7 (15,9)	2 (4,5)	2 (4,3)	4 (9,1)	4 (9,3)	4 (8,9)	23 (8,6)	3 (7,1)
Прекращение лечения в рамках исследования вследствие	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (6,8)	1 (2,3)	3 (6,7)	7 (2,6)	0 (0,0)

АЕ								
АЕ по основному классу по поражению органов и систем органов								
Инфекции и инвазии	12 (27,3)	9 (20,5)	14 (29,8)	6 (13,6)	12 (27,9)	11 (24,4)	64 (24,0)	9 (21,4)
Нарушения со стороны кожи и подкожной клетчатки	7 (15,9)	9 (20,5)	5 (10,6)	6 (13,6)	12 (27,9)	6 (13,3)	45 (16,9)	2 (4,8)
Нарушения со стороны нервной системы	3 (6,8)	10 (22,7)	7 (14,9)	4 (9,1)	6 (14,0)	5 (11,1)	35 (13,1)	7 (16,7)
Нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта	7 (15,9)	4 (9,1)	6 (12,8)	6 (13,6)	2 (4,7)	5 (11,1)	30 (11,2)	5 (11,9)
Нарушения со стороны скелетно-мышечной и соединительной ткани	4 (9,1)	1 (2,3)	3 (6,4)	3 (6,8)	7 (16,3)	6 (13,3)	24 (9,0)	2 (4,8)
Исследования	6 (13,6)	4 (9,1)	6 (12,8)	2 (4,5)	4 (9,3)	3 (6,7)	25 (9,4)	3 (7,1)

АЕ - нежелательное явление; b.i.d. - два раза в день; N - количество пациентов; PT - предпочтительный термин; q.d. - один раз в день; SAE - серьезное нежелательное явление; SOC - класс по поражению органов и систем органов

Для составления отчетов использовали версию MedDRA 24.0.

Сводные данные по безопасности в исследовании фазы 2b (фаза продления лечения) у субъектов с CSU (промежуточные результаты)

В 52-недельном открытом исследовании продления лечения для оценки безопасности переносимости LOU064 при долговременном применении у субъектов с

CSU, соответствующих критериям включения, которые участвовали в исследовании фазы 2b, использованная доза составляла 100 мг b.i.d.

Никаких сигналов по безопасности не наблюдалось по данным промежуточного анализа 100 субъектов, получивших по меньшей мере 1 дозу LOU064 со средней продолжительностью воздействия 17,86 недели (диапазон: от 2,9 недели до 44,7 недели). На момент прекращения сбора данных 93 субъекта (93%) продолжали участвовать в исследовании, а 7 субъектов прекратили участие в исследовании; ни один из случаев прекращения участия не был обусловлен нежелательными явлениями. В таблице 4 представлены сводные данные по безопасности, наблюдаемые в исследовании фазы 2b до даты прекращения сбора данных для промежуточного анализа.

Таблица 4. Промежуточный анализ открытого исследования продления лечения: летальные случаи, другие серьезные или клинически значимые нежелательные явления или связанное с ними случаи прекращения участия в исследовании (выборка для оценки безопасности)

	LOU064
	100 мг B.I.D.
	N=100
	n (%)
Пациенты с АЕ	58 (58)
Пациенты с серьезными или другими значимыми явлениями	
Летальный исход	0
Нелетальное SAE	3 (3,0)
Прекращение участия в исследовании вследствие какого-либо АЕ	0
Прекращение участия в исследовании вследствие какого-либо SAE	0
Прерывание лечения вследствие АЕ	5 (5,0)
Прерывание лечения вследствие SAE	1 (1,0)
Прекращение сбора данных для промежуточного анализа - 31 августа 2020 г.	

У пятидесяти восьми субъектов (58%) наблюдали по меньшей мере одно АЕ, возникшее в ходе лечения. Большинство АЕ не являлись серьезными, не приводили к прекращению лечения и характеризовались легкой степенью тяжести. Наиболее часто встречающимся SOC были инфекции и инвазии (14%), за которыми следовали нарушения со стороны кожи и подкожной клетчатки (13%), без каких-либо тенденций в отношении конкретных нежелательных явлений. Наиболее распространенными предпочтительными терминами для нежелательных явлений ($\geq 2\%$) были головная боль (6%), диарея (4%),

головокружение (3%) и гастроэнтерит (3%); не было зарегистрировано ни одного явления кровотечения (определяемого в широком SMQ как событие "кровоточивости" и PT, включая аномальную агрегацию тромбоцитов, снижение агрегации тромбоцитов, подавление агрегации тромбоцитов, дисфункцию тромбоцитов, отклонение результатов функционального теста тромбоцитов от нормы и токсичность для тромбоцитов) или явлений из SOC "Нарушения со стороны крови и лимфатической системы". Было зарегистрировано три SAE: киста яичника, боль в груди и аппендицит; ни одно из них не было признано связанным с исследуемым лекарственным средством.

Выводы исследования фазы 2b и соответствующего открытого исследования продления лечения

В целом, в исследовании фазы 2b не было обнаружено новых или неожиданных результатов исследования безопасности для всех оцененных доз. Кроме того, в соответствующем открытом исследовании продления лечения для CSU, в котором используется LOU064 в дозе 100 мг b.i.d., не наблюдалось никаких сигналов по безопасности у 100 субъектов, включенных в исследование по состоянию на 31 августа 2020 г. Предлагаемая доза 100 мг LOU064 b.i.d. считается хорошо переносимой и характеризующейся благоприятным профилем безопасности.

Сводные данные по безопасности в исследовании фазы 2b (фаза продления лечения) у субъектов с CSU (промежуточные результаты /пациенты со средней продолжительностью воздействия 35,14 недели)

В вышеуказанном 52-недельном открытом исследовании продления лечения для оценки безопасности и переносимости LOU064 при долговременном применении у субъектов с CSU, соответствующих критериям включения, которые участвовали в исследовании фазы 2b с дозой 100 мг b.i.d., провели новый промежуточный анализ с участием пациентов (N=183) со средней продолжительностью воздействия 35,14 недели, и результаты сравнили с результатами по безопасности в рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом основном исследовании Ph2b у взрослых пациентов с CSU, которые получали (1:1:1:1:1:1) ремибрутиниб 10 мг qd (один раз в день), 35 мг qd, 100 мг qd, 10 мг bid (два раза в день), 25 мг bid или 100 мг bid или плацебо вплоть до 12 недель (нед.) (NCT03926611) (таблица 5).

При длительном воздействии в ES (медиана 35,14 нед., N=183) доля пациентов с по меньшей мере одним нежелательным эффектом (АЕ) при лечении ремибрутинибом (57,4% [n=105]) была аналогична таковой в CS (представлено для любой дозы ремибрутиниба) (58,1% [n=155]; медиана 12,14 нед., N=267). В ES наблюдалось 4 серьезных нежелательных эффекта (SAE), 6 АЕ приведших к прекращению лечения и ни одного летального исхода. Частота АЕ по главным классам органов (SOC), зарегистрированная в ES и CS, была сходной: инфекции и инвазии (23,0% и 24,0%), за которыми следовали нарушения со стороны кожи/подкожной клетчатки (17,5% и 16,9%) (таблица 5). Частота зарегистрированных АЕ по предпочтительным терминам была сопоставима в ES и CS, при этом наиболее распространенной была головная боль (6,6% и

9,7%). Частота AESI в ES, таких как инфекции (23%), кровотечения (4,4%) и цитопении (0,5%), соответствовала CS. Впервые возникшие эпизоды заметного повышения содержания трансаминаз были единичным как в ES (отдельно ALT>3xULN, нормализовалось в течение 4 недель, у 1 пациента участие досрочно прекращено по личным причинам), так и в CS (ALT>5xULN у 1 пациента, нормализовалось на фоне лечения). Анализ лабораторных параметров не выявил значимых проблем безопасности, и не наблюдалось клинически значимых изменений жизненно важных функций. Ни у одного пациента не было отмечено значимых изменений ЭКГ или интервала QT, составляющего >500 мс.

Вывод

Для рембрутиниба был показан благоприятный профиль безопасности во всем диапазоне доз, при этом не наблюдалось новых сигналов по безопасности при длительном воздействии дозы 100 мг bid в течение вплоть до 52 нед. у пациентов с CSU.

Таблица 5. Профиль безопасности рембрутиниба (LOU064) в основном исследовании фазы 2b и исследовании продления лечения (выборка для оценки безопасности)

Основное исследование (CS)								ES	
Пациенты n (%)	LOU064							Плацебо	LOU064
	10 мг q.d.	35 мг q.d.	100 мг q.d.	10 мг b.i.d.	25 мг b.i.d.	100 мг b.i.d.	Любая доза	N=42	100 мг b.i.d.
	N=44	N=44	N=47	N=44	N=43	N=45	N=26 7		(N=18 3)
Пациенты с ≥1 АЕ	29 (65,9)	23 (52,3)	27 (57,4)	21 (47,7)	26 (60,5)	29 (64,4)	155 (58,1)	18 (42,9)	105 (57,4)
Прекращение лечения в рамках исследования вследствие АЕ	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (6,8)	1 (2,3)	3 (6,7)	7 (2,6)	0 (0,0)	6 (3,3)
Пациенты с SAE	1 (2,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (4,5)	2 (4,7)	0 (0,0)	5 (1,9)	0 (0,0)	4 (2,2)
Наиболее частые АЕ по основному классу по поражению органов и систем									

органов ($\geq 10\%$ всех пациентов, получавших любую дозу LOU064, или группы плацебо в CS или при дозе 100 мг b.i.d. в ES)									
Инфекции и инвазии	12 (27,3)	9 (20,5)	14 (29,8)	6 (13,6)	12 (27,9)	11 (24,4)	64 (24,0)	9 (21,4)	42 (23,0)
Нарушения со стороны кожи и подкожной клетчатки	7 (15,9)	9 (20,5)	5 (10,6)	6 (13,6)	12 (27,9)	6 (13,3)	45 (16,9)	2 (4,8)	32 (17,5)
Нарушения со стороны нервной системы	3 (6,8)	10 (22,7)	7 (14,9)	4 (9,1)	6 (14,0)	5 (11,1)	35 (13,1)	7 (16,7)	19 (10,4)
Заболевания желудочно-кишечного тракта	7 (15,9)	4 (9,1)	6 (12,8)	6 (13,6)	2 (4,7)	5 (11,1)	30 (11,2)	5 (11,9)	26 (14,2)
Наиболее частые АЕ по РТ ($\geq 5\%$ пациентов в группе введения доз лекарственного средства или группе плацебо в CS или при дозе 100 мг b.i.d. в ES)									
Головная боль	1 (2,3)	7 (15,9)	4 (8,5)	3 (6,8)	6 (14,0)	5 (11,1)	26 (9,7)	6 (14,3)	12 (6,6)
Назофарингит	7 (15,9)	2 (4,5)	2 (4,3)	4 (9,1)	4 (9,3)	4 (8,9)	23 (8,6)	3 (7,1)	6 (3,3)
Хроническая спонтанная крапивница	3 (6,8%)	2 (4,5%)	3 (6,4%))	4 (9,1%))	2 (4,7%))	2 (4,4%))	16 (6,0%))	1 (2,4%))	6 (3,3)

Пример 5

Ниже проиллюстрирована предпочтительная фармацевтическая композиция (таблетка, покрытая пленочной оболочкой).

Ингредиент	Количество на 100 мг таблетки, покрытой пленочной оболочкой		Функция (мг)
Ядро таблетки			

LOU064	100,0	Лекарственное вещество
Маннит	243,8	Носитель
Целлюлоза, микрокристаллическая/ микрокристаллическая целлюлоза	85,8	Разбавитель
Коповидон	50,0	Связующее вещество
Кроскармеллоза натрия	31,2	Разрыхлитель
Стеарилфумарат натрия	5,2	Смазывающее вещество
Лаурилсульфат натрия/ натрия лаурилсульфат	4,0	Поверхностно- активное вещество
Вода, очищенная/ очищенная вода ¹	---	Суспендирующее средство/ растворитель
Вес ядра таблетки	520,0	
Оболочка		
Базовая смесь для нанесения оболочки, желтая	14,2	Пленочная оболочка
Базовая смесь для нанесения оболочки, красная	4,4	Пленочная оболочка
Базовая смесь для нанесения оболочки, белая	4,4	Пленочная оболочка
Базовая смесь для нанесения оболочки, черная	1,2	Пленочная оболочка
Вода, очищенная ²	---	Гранулирующая жидкость
Общий вес таблетки, покрытой пленочной оболочкой	544,2	

^{1,2} Удаляется во время обработки

Пример 6

Ниже проиллюстрирована другая предпочтительная фармацевтическая композиция

(твердая желатиновая капсула).

Ингредиент	Количество на капсулу весом 50 мг (мг)	Функция
Содержимое капсулы		
LOU064	50,000	Лекарственное вещество
Маннит	147,500	Носитель
Целлюлоза, микрокристаллическая/ микрокристаллическая целлюлоза	78,100	Разбавитель
Коповидон	50,000	Связующее вещество
Гидрокарбонат натрия/ бикарбонат натрия	10,200	Разрыхлитель
Стеарат магния ¹	1,700	Смазывающее вещество
Лаурилсульфат натрия/ натрия лаурилсульфат	2,500	Поверхностно- активное вещество Суспендирующее
Вода, очищенная/ очищенная вода ²	---	средство/ растворитель
Вес содержимого капсулы	340,000	
Пустая оболочка капсулы		
Оболочка капсулы (теоретический вес) ³	96,000	
Общий вес капсулы	436,000	
Компоненты оболочки одной капсулы		
Компоненты оболочки капсулы¹	Ссылка на стандарты	
Желатин	Евр. Фарм., USP/NF	
Диоксид титана (E 171)	Евр. Фарм., USP/NF	
Оксид железа (E172), красный/ окись железа	Постановление (EU) 231/2012 ² , USP/NF	

¹ Как для капсулы, так и для вещества

² Постановление Комиссии (EU), устанавливающее спецификации для пищевых добавок
E=официальный номер, применяемый в Европейском Союзе для красителей

Для твердых желатиновых капсул показана хорошая стабильность, и текущий срок годности составляет 36 месяцев.

Пример 7

Предсказание занятости ВТК с использованием трансляционной PK/PD-модели для LOU064

Занятость ВТК в крови не является информативным биомаркером для выбора дозы из-за фармакологических свойств LOU064 (необратимое связывание). Для данного биомаркера полная занятость достигается даже при низких дозах, до того, как проявится фармакологическая активность при использовании других биомаркеров (CD63, CD203c, кожный прик-тест). Занятость в тканях может быть более репрезентативным показателем для эффективности LOU064.

Цели

Целью этого анализа было охарактеризовать фармакокинетику (PK) LOU064 у здоровых добровольцев и применить ранее разработанную трансляционную модель занятости мишени для моделирования занятости ВТК в селезенке/тканях человека в диапазоне доз и схем введения доз (VID по сравнению с QD).

Данные

Данные по фармакокинетики из клинического исследования фазы I, представленные в работе Kaul et al. (2021), использовали в текущем анализе, включающем 102 пациента.

Способы

Трансляционная модель занятости мишени для моделирования занятости ВТК в селезенке/тканях была разработана с использованием двухстадийного подхода.

На первой стадии была создана популяционная PK-модель для описания данных по PK для LOU064 из клинического исследования фазы I, представленных в работе Kaul et al. (2021). На второй стадии оценочные значения параметров из популяционной PK-модели использовали в модели занятости ВТК для предсказания занятости ВТК в крови и селезенке/тканях. В конечном итоге модель занятости ВТК использовали для предсказания занятости ВТК в селезенке/тканях для различных схем введения доз (QD, VID) при разных дозах.

Результаты

Популяционная PK-модель была разработана для описания промежуточной PK на основе клинического исследования фазы I, представленном в работе Kaul et al. (2021). Чтобы учесть изменение клиренса после повторного введения доз для доз ниже 50 мг (более низкий клиренс в равновесном состоянии в день 12 по сравнению с днем 1 при отсутствии такого различия при более высоких дозах), клиренс моделировали в виде зависимости от экспоненциально постепенного снижающегося значения времени для доз менее 50 мг и как постоянный клиренс для доз выше 50 мг. В целом полученная популяционная модель достаточно хорошо описывала данные по PK.

Оценки PK-параметров использовали в трансляционной модели занятости ВТК для моделирования занятости ВТК в равновесном состоянии. Моделирование занятости ВТК показали, что введение дозы VID является более эффективным, чем введение дозы QD при

той же дозе для достижения более высокой занятости ВТК (при остаточном значении и среднем значении за 24-часовой интервал).

Для выбранного количества доз при схеме QD и BID остаточное значение или среднее значение за период, составляющий 24 часа, для занятости ВТК в равновесном состоянии показаны на фигуре 21А (остаточное значение за 24 часа для занятости ВТК в равновесном состоянии) и фигуре 21В (среднее значение за 24 часа для занятости ВТК в равновесном состоянии) соответственно для схем введения доз 10 мг, 35 мг, 100 мг один раз в день и 10 мг, 25 мг и 100 мг два раза в день. Обе фигуры показывают, что для достижения остаточной занятости ВТК $\geq 80\%$ в периферической ткани-мишени может потребоваться суточная доза, составляющая вплоть до 200 мг (100 мг BID).

Моделирования проводили для сравнения различных схем введения доз. Сравнение смоделированной занятости ВТК в селезенке в равновесном состоянии при дозе 100 мг BID по сравнению с таковой при дозе 100 мг QD с течением времени показано на фигуре 22. График показывает, что занятость при введении дозы BID является более высокой и менее вариабельной по сравнению с введением дозы QD.

Выводы.

Моделирования занятости ВТК показали, что введение дозы BID является более эффективным, чем введение дозы QD при той же дозе для достижения более высокой занятости ВТК (при остаточном значении и среднем значении за 24-часовой интервал).

Пример 8

Клинические исследования фазы III, показывающие эффективность и безопасность LOU064 при лечении пациентов с RMS

Цель

Чтобы продемонстрировать, что LOU064 (100 мг p.o. b.i.d.) превосходит терифлуномид (14 мг p.o. один раз в день) в отношении обеспечения снижения частоты подтвержденных рецидивов, оцениваемой по частоте рецидивов в годовом исчислении (ARR) у субъектов с рецидивирующим MS, пациентам с рассеянным склерозом проводят лечение с помощью LOU064.

Способы

Проводятся два идентичных двойных слепых, рандомизированных, многоцентровых исследования с двойной имитацией, с использованием активного препарата в качестве контроля, с параллельными группами для оценки эффективности и безопасности LOU064 (100 мг b.i.d.) по сравнению с терифлуномидом (14 мг) при лечении пациентов с RMS плюс долгосрочное открытое исследование продления лечения для определения безопасности для них. В общей сложности в исследованиях фазы III принимают участие примерно 1600 субъектов (800 на исследование).

Пациентов рандомизировали (1:1) для получения LOU064 по 100 мг p.o. b.i.d. или терифлуномида по 14 мг перорально один раз в день в течение до 30 месяцев, начиная с дня 1. Исследования характеризуются гибкой продолжительностью, при этом их завершение происходит в течение основного периода лечения с маскировкой данных в

соответствии с заранее установленными критериями. Пациенты в возрасте 18-55 лет с диагнозом рецидивирующего MS в соответствии с диагностическими критериями Макдональда 2017 года (к ним относятся рецидивирующе-ремиттирующее течение (RRMS) или вторично-прогрессирующее течение (SPMS) с активностью заболевания), с баллом по Расширенной шкале оценки степени инвалидизации (EDSS) (согласно Kurtzke, Neurology: ноябрь 1983 г.; 33(11): 1444-52), составляющим 0-5,5 при скрининге, у которых наблюдался ≥ 1 рецидив в прошедшем году или ≥ 2 рецидивов за прошедшие 2 года или получен подтверждающий диагноз снимок МРТ с контрастированием гадолинием (Gd+) в течение 6 месяцев до рандомизации и которые были неврологически стабильными в течение 1 месяца до рандомизации, были включены в исследование.

Первичной конечной точкой исследования является частота рецидивов в годовом исчислении (ARR), т. е. количество подтвержденных рецидивов в год. Основные вторичные конечные точки включают конечные точки инвалидизации (объединенный показатель CDP, т. е. время до прогрессирования инвалидизации, измеренное с помощью 3-месячного подтвержденного прогрессирования инвалидизации (3mCDP) и 6-месячного подтвержденного прогрессирования (6mCDP) согласно EDSS на основе объединенных данных двух исследований), конечные точки МРТ (т. е. количество очагов поражения T1 с контрастированием гадолинием (Gd) на снимок МРТ, количество новых или увеличенных очагов поражения T2 по данным МРТ в год (частота очагов поражения T2 в годовом исчислении)), концентрацию легкой цепи нейрофиламента (NfL) в сыворотке крови, отсутствие признаков активности заболевания-3 (NEDA3) на основе объединенных данных двух исследований, а также скорость потери объема головного мозга (BVL) на основе оценок процентного изменения объема головного мозга относительно исходного уровня.

Конечные точки ARR и МРТ анализируют с использованием модели отрицательной биномиальной регрессии; конечные точки CDP анализируют с использованием регрессионной модели Кокса.

В общей сложности примерно 800 субъектов рандомизируют для приема исследуемого лекарственного средства в соотношении 1:1 (400 на группу лечения) для каждого исследования, что обеспечивает $>90\%$ мощность для демонстрации превосходства LOU064 над терифлуномидом по первичной конечной точке (ARR) в каждом исследовании, предполагая относительное снижение ARR на 40% при приеме ремибрутиниба (LOU064) на основе 1-стороннего теста с уровнем значимости 0,025 и частотой выбывания 20% за 2 года. Объединение 1600 пациентов из двух исследований дает 90% мощность, чтобы продемонстрировать превосходство LOU064 над терифлуномидом по 3mCDP, предполагая 40% снижение риска на основе 1-стороннего теста с уровнем значимости 0,025 и частотой выбывания 20% за 2 года. Кроме того, эффективность LOU064 (100 мг bid), а также превосходство лечения с помощью LOU064 по сравнению с терифлуномидом (14 мг QD) при лечении пациентов с RMS также оценивают путем измерения вторичных конечных точек, таких как SDMT, T25FW и

9НРТ, а также измерения результатов, основанных на опросе пациентов, таких как MSIS-29, HUI-III, PHQ-9, GAD-7, FSIQ-RMS и BPI-SF).

Сводные данные по вторичным критериям эффективности представлены в таблице ниже.

Критерий эффективности	Период времени	Описание
Время до 3-месячного подтвержденного прогрессирования инвалидизации (3mCDP) по Расширенной шкале оценки степени инвалидизации (EDSS) - основное исследование	От исходного момента времен вплоть до 2,5 года, каждые 3 месяца	Время до 3-месячного подтвержденного прогрессирования инвалидизации (3mCDP) определяется как увеличение значения по Расширенной шкале оценки степени инвалидизации (EDSS) относительно исходного уровня, сохраняющееся в течение по меньшей мере 3 месяцев
Время до 6-месячного подтвержденного прогрессирования инвалидизации (6mCDP) по EDSS - основное исследование	От исходного момента времен вплоть до 2,5 года, каждые 6 месяцев	Время до 6-месячного подтвержденного прогрессирования инвалидизации (6mCDP) определяется как увеличение значения по Расширенной шкале оценки степени инвалидизации (EDSS) относительно исходного уровня, сохраняющееся в течение по меньшей мере 6 месяцев.
Частота новых или увеличенных очагов поражения T2 в годовом исчислении - основное исследование	От исходного момента времени до 2,5 года	Количество новых/увеличенных очагов поражения T2 по сравнению с последним имеющимся снимком МРТ в различные моменты времени
Концентрация легкой цепи нейрофиламента (Nfl) в сыворотке	Исходный момент времени, месяцы 3, 6,	Уменьшение уровня повреждения нейронов, определяемое по концентрации Nfl в сыворотке крови

крови - основное исследование	12, 24, 30	
Количество очагов поражения T1 с Gd-контрастированием на снимок МРТ - основное исследование	От исходного момента времени до 2,5 года	Общее количество очагов поражения T1 с Gd-контрастированием для всех снимков на одного пациента с поправкой на разное количество снимков из-за разного времени наблюдения в исследовании.
Процент участников с отсутствием признаков активности заболевания-3 (NEDA-3) - основное исследование	От исходного момента времени вплоть до 2,5 года, каждые 6 месяцев	Статус отсутствия активности заболевания основан на проценте участников с отсутствием признаков активности заболевания-3 (NEDA-3), что оценивается по отсутствию подтвержденных рецидивов MS, 6mCDP и новых/увеличенных очагов поражения T2 на МРТ
Время до первого подтвержденного рецидива - основное исследование	От исходного момента времени до 2,5 года	6-Месячное подтвержденное улучшение в отношении инвалидизации (6mCDI), сохраняющееся до конца исследования
Изменение относительно исходного уровня в тесте на сопоставление символов и цифр (SDMT) (объединенные данные) - основное исследование	От исходного момента времени до 2,5 года	Тест на сопоставление символов и цифр (SDMT) измеряет скорость обработки информации. Оценка представляет собой количество правильно определенных элементов за 90 секунд. (max=110, min=0). Более высокие баллы указывают на улучшение. Более низкие баллы указывают на ухудшение.
Время до 6-месячного подтвержденного ухудшения на по меньшей мере 20% в тесте прохождения	От исходного момента времени вплоть до 2,5 года, каждые 6 месяцев	У пациента оценивают скорость прохождения расстояния в 25 футов. Время регистрируют в секундах. Более длительное время указывает на ухудшение функции верхних конечностей. Улучшение на 20% определяется как сокращение времени в секундах на 20%.

25 футов на время (T25FW) - основное исследование		
Время до 6-месячного подтвержденного ухудшения на по меньшей мере 20% в тесте на время с 9 отверстиями и кольшками (9НРТ) (объединенные данные) - основное исследование	От исходного момента времен вплоть до 2,5 года, каждые 6 месяцев	Тест с 9 отверстиями и кольшками представляет собой тест функции верхних конечностей. Более длительное время указывает на ухудшение функции верхних конечностей. Улучшение на 20% определяется как сокращение времени в секундах на 20%.
Время до комбинированного 6-месячного подтвержденного прогрессирования инвалидизации - основное исследование	От исходного момента времен вплоть до 2,5 года, каждые 6 месяцев	Время до комбинации оценивают по 6mCDP или 6-месячному подтвержденному ухудшению на по меньшей мере 20% в T25FW или 9НРТ.
Изменение объема очагов поражения T2 относительно исходного уровня - основное исследование	От исходного уровня до. месяцев 6, 12, 24 и 30	Процент изменения общего объема очагов поражения T2 относительно исходного уровня
Изменение значения по Опроснику по симптомам и воздействию усталости - рецидивирующий рассеянный склероз	От исходного момента времени до 2,5 года	Опросник из 20 пунктов, объединенных в два домена симптомов (энергия, мышечная слабость) и семь доменов воздействия (повседневная деятельность, когнитивная деятельность, эмоции, воздействие на физическое состояние, уход за собой, сон и воздействие на социальную сферу).

(FSIQ-RMS) относительно исходного уровня - основное исследование		Общий балл находится в диапазоне от 0 до 100, где более высокий балл соответствует большей усталости
Изменение значения по Шкале генерализованного тревожного расстройства (GAD- 7) относительно исходного уровня - основное исследование	От исходного момента времени до 2,5 года	Шкала из 7 пунктов для самостоятельного заполнения. Варианты ответа для данной шкалы состоят из 4-балльной шкалы Лайкерта: 0: совсем нет; 1: несколько дней; 2: более половины дней; 3: почти каждый день. Она имеет общий балл в диапазоне 0-21. Более высокий балл означает более высокую степень тяжести симптомов тревоги.
Изменение значения по Опроснику о состоянии здоровья пациента-9 (PHQ-9) относительно исходного уровня - основное исследование	От исходного момента времени до 2,5 года	Шкала из 9 пунктов для самостоятельного заполнения. Баллы могут находиться в диапазоне от 0 до 27, поскольку каждый из 9 пунктов может давать баллы от 0 (совсем нет) до 3 (почти каждый день). Баллы по PHQ-9, равные 5, 10, 15 и 20, представляли легкую, умеренную, умеренно тяжелую и тяжелую степень депрессии соответственно.
Изменение значения по короткой форме Краткого опросника оценки выраженности боли (BPI-SF) относительно исходного уровня - основное исследование	От исходного момента времени до 2,5 года	Опросник из 15 пунктов для самостоятельного заполнения для оценки степени тяжести боли и влияния боли на повседневные функции. Включает шкалу помех из 7 пунктов. Она имеет 10-балльный вариант ответа от 0 (не мешает) до 10 (полностью препятствует). Общий балл находится в диапазоне от 0 до 10, где более низкие оценки соответствуют меньшей боли.
Изменение значения по Шкале влияния	От исходного момента	MSIS-29 представляет собой опросник для самостоятельного заполнения, состоящий из

<p>рассеянного склероза (MSIS-29) относительно исходного уровня - основное исследование</p>	<p>времени до 2,5 года</p>	<p>29 пунктов и включающий 2 домена: физический и психологический. Ответы оцениваются по 4-балльной шкале в диапазоне от «совсем нет» (1) до «чрезвычайно» (4), при этом более высокие баллы отражают большее влияние на повседневную жизнь.</p>
<p>Количество и процент участников с суицидальными мыслями и/или суицидальным поведением - основное исследование</p>	<p>От исходного момента времени до 2,5 года</p>	<p>Опросник для самостоятельного заполнения, позволяющий осуществить оценку суицидальных мыслей и суицидального поведения</p>
<p>Количество нежелательных явлений и серьезных нежелательных явлений - основное исследование</p>	<p>От исходного момента времени до 2,5 года</p>	<p>Данные по нежелательным явлениям будут собираться на протяжении всего испытания. Любые результаты оценки безопасности, такие как данные лабораторных исследований, данные по жизненно важным функциям, данные электрокардиограммы, которые считаются клинически значимыми или соответствуют протокольному определению нежелательного явления, будут регистрироваться как нежелательное явление или серьезное нежелательное явление, в зависимости от обстоятельств</p>

Часть для исследования продления лечения проводится для измерения долгосрочной безопасности и эффективности LOU064 (100 мг bid).

Часть для исследования продления лечения представляет собой открытую несравнительную схему с фиксированной дозой, в которой участники, соответствующие критериям включения, получают лечение с помощью LOU064 в течение до 5 лет. Участники основного исследования, принимавшие LOU064 (до 30 месяцев), продолжат прием LOU064 (100 мг bid), а участники основного исследования, принимавшие терифлуномид (14 мг QD), перейдут на LOU064 (100 мг bid).

Количество нежелательных явлений и серьезных нежелательных явлений исследование продления лечения	От дня 1 исследования продления лечения вплоть до 5 лет	Данные по нежелательным явлениям будут собираться на протяжении всего испытания. Любые результаты оценки безопасности, такие как данные лабораторных исследований, данные по жизненно важным функциям, данные электрокардиограммы, которые считаются клинически значимыми или соответствуют протокольному определению нежелательного явления, будут регистрироваться как нежелательное явление или серьезное нежелательное явление, в зависимости от обстоятельств
Частота рецидивов в годовом исчислении (ARR) для подтвержденных рецидивов исследование продления лечения	От дня 1 исследования продления лечения вплоть до 5 лет	Подтвержденный рецидив определяется как клинически значимое изменение значения по Расширенной шкале оценки степени инвалидизации (EDSS). ARR определяется как количество подтвержденных рецидивов MS в год.
Частота новых или увеличенных очагов поражения T2 в годовом исчислении - исследование продления лечения	От дня 1 исследования продления лечения вплоть до 5 лет	Количество новых/увеличенных очагов поражения T2 по сравнению с последним имеющимся снимком МРТ в различные моменты времени.
Время до 6- месячного подтвержденного прогрессирования инвалидизации (6mCDP) по EDSS - исследование продления лечения	От дня 1 исследования продления лечения вплоть до 5 лет, каждые 6 месяцев	Время до 6-месячного подтвержденного прогрессирования инвалидизации (6mCDP) определяется как увеличение значения по Расширенной шкале оценки степени инвалидизации (EDSS) относительно исходного уровня, сохраняющееся в течение по меньшей мере 6 месяцев
Изменение	От дня 1	Тест на сопоставление символов и цифр

<p>значения в тесте на сопоставление символов и цифр (SDMT) (объединенные данные) относительно исходного уровня - исследование продления лечения</p>	<p>исследования продления лечения вплоть до 5 лет</p>	<p>(SDMT) измеряет скорость обработки информации. Оценка представляет собой количество правильно определенных элементов за 90 секунд (max=110, min=0). Более высокие баллы указывают на улучшение. Более низкие баллы указывают на ухудшение.</p>
<p>Концентрация легкой цепи нейрофиламента (Nfl) в сыворотке крови - исследование продления лечения</p>	<p>От дня 1 исследования продления лечения вплоть до 5 лет</p>	<p>Уменьшение уровня повреждения нейронов, определяемое по концентрации легкой цепи нейрофиламента (Nfl) в сыворотке крови</p>
<p>Изменение значения по Опроснику по симптомам и воздействию усталости - рецидивирующий рассеянный склероз (FSIQ-RMS) относительно исходного уровня - исследование продления лечения</p>	<p>От дня 1 исследования продления лечения вплоть до 5 лет</p>	<p>Опросник из 20 пунктов, объединенных в два домена симптомов (энергия, мышечная слабость) и семь доменов воздействия (повседневная деятельность, когнитивная деятельность, эмоции, воздействие на физическое состояние, уход за собой, сон и воздействие на социальную сферу). Общий балл находится в диапазоне от 0 до 100, где более высокий балл соответствует большей усталости</p>
<p>Изменение по Шкале генерализованного тревожного расстройства (GAD-7) относительно исходного уровня - исследование</p>	<p>От дня 1 исследования продления лечения вплоть до 5 лет</p>	<p>Шкала из 7 пунктов для самостоятельного заполнения. Варианты ответа для данной шкалы состоят из 4-балльной шкалы Лайкерта: 0: совсем нет; 1: несколько дней; 2: более половины дней; 3: почти каждый день. Она имеет общий балл в диапазоне 0-21.</p>

продления лечения		Более высокий балл означает более высокую степень тяжести симптомов тревоги.
Изменение значения по Опроснику о состоянии здоровья пациента-9 (PHQ-9) относительно исходного уровня - исследование продления лечения	От дня 1 исследования продления лечения вплоть до 5 лет	Шкала из 9 пунктов для самостоятельного заполнения. Баллы могут находиться в диапазоне от 0 до 27, поскольку каждый из 9 пунктов может давать баллы от 0 (совсем нет) до 3 (почти каждый день). Баллы по PHQ-9, равные 5, 10, 15 и 20, представляли легкую, умеренную, умеренно тяжелую и тяжелую степень депрессии соответственно.
Изменение значения по короткой форме Краткого опросника оценки выраженности боли (BPI-SF) относительно исходного уровня - исследование продления лечения	От дня 1 исследования продления лечения вплоть до 5 лет	Опросник из 15 пунктов для самостоятельного заполнения для оценки степени тяжести боли и влияния боли на повседневные функции. Включает шкалу помех из семи пунктов. Она имеет 10-балльный вариант ответа от 0 (не мешает) до 10 (полностью препятствует). Общий балл находится в диапазоне от 0 до 10, где более низкие оценки соответствуют меньшей боли.
Изменение индекса Health Utilities (HUI-III) относительно исходного уровня - исследование продления лечения	От дня 1 исследования продления лечения вплоть до 5 лет	HUI-III представляет собой самостоятельно определяемый индекс из 17 пунктов, который позволяет проводить измерение в отношении восьми областей качества жизни, связанных со здоровьем, включая зрение, слух, речь, передвижение/подвижность, боль, ловкость, эмоции и когнитивная деятельность.
Изменение значения по Шкале влияния рассеянного склероза (MSIS-29)	От дня 1 исследования продления лечения вплоть до 5 лет	MSIS-29 представляет собой опросник для самостоятельного заполнения, состоящий из 29 пунктов и включающий 2 домена: физический и психологический. Ответы оцениваются по 4-балльной шкале в диапазоне от «совсем нет» (1)

относительно исходного уровня - исследование продления лечения		до «чрезвычайно» (4), при этом более высокие баллы отражают большее влияние на повседневную жизнь.
--	--	--

Пример 9

Анализ scRNA-послед. у мышей с RatMOG EAE, обработанных с помощью LOU064

Способы

Обработка и контроль качества данных по scRNA-послед.

Необработанные считанные фрагменты секвенирования для 10X Genomics Chromium обрабатывали с помощью Cell Ranger [Zheng, G. et al. (2017), Nat Commun 8, 14049]. Все последующие анализы проводили в R версии 4.1 и Bioconductor версии 3.14, в общих чертах следуя рекомендациям в “Orchestrating single-cell analysis with Bioconductor” [Amezquita, R.A. et al. (2020), Nat Methods 17, 137-145] и используя схему, обеспечиваемую пакетами scuttle, scater [Davis J McCarthy et al. (2017), Bioinformatics, Vol 33, 8, 1179-1186] и scran [Lun ATL et al. (2016), F1000 Research, 5:2122; <https://doi.org/10.12688/f1000research.9501.2>]. Один образец был исключен из анализа из-за низкого количества UMI на клетку и подозрения на загрязнение посредством РНК из окружающей среды. Адаптивно-пороговый контроль качества использовали для удаления клеток низкого качества с небольшим размером библиотеки, малым количеством обнаруженных генов или высокой долей считанных фрагментов митохондриального происхождения. Дубликаты идентифицировали и удаляли с использованием scDblFinder [Germain PL et al. (2021) F1000Research 10:979; <https://doi.org/10.12688/f1000research.73600.1>]. В общей сложности 76287 клеток прошли контроль качества.

Нормализация, отбор по признакам и уменьшение размерности

Для внесения поправки на погрешности, связанных с размером и составом библиотеки, проводили нормализацию путем объединения данных по клеткам и деконволюции коэффициентов размера с последующим преобразованием \log_2 . Соотношение среднего значения и дисперсии для каждого гена моделировали отдельно для двух тканей. Гены с высокой вариабельностью отбирали с использованием порога частоты ложноположительных результатов 5% при нулевой гипотезе о том, что биологическая компонента вариации гена равна нулю. Затем эти гены использовали для проведения анализа основных компонент, и сохранили только те РС, которые относились к биологической компоненте вариации гена. Наконец, выбранные РС использовали для получения представления данных с уменьшенной размерностью (UMAP).

Кластеризация и аннотация типа клетки

Для идентификации кластеров схожих клеток использовали общий подход кластеризации на основе графа ближайших соседей с 5 ближайшими соседями,

коэффициентом Жаккара в качестве схемы взвешивания и лувенским алгоритмом в качестве способа кластеризации. Кластеры клеток относили к типам клеток с использованием SingleR [Aran D et al. (2019), *Nat Immunol.* 20, 163-172] и двух наборов общих эталонных материалов по транскриптомике типов клеток мыши [Heng TS et al. (2008), *Nat. Immunol.* 9, 1091-1094; Benayoun B et al. (2019), *Genome Res.* 29, 697-709]. Микроглию дополнительно аннотировали как гомеостатическую микроглию (HM) и микроглию, ассоциированную с заболеванием (DAM), с использованием UCell [Andreatta M. et al. (2021), *Comput Struct Biotechnol J.* 19:3796-3798] и маркерных генов в [Deczkowska A et al. (2018), *Cell.* 17; 173(5):1073-1081].

Анализ дифференциальной экспрессии и представленности

Для каждого типа клеток проводили анализ псевдообъемной дифференциальной экспрессии с использованием edgeR [Robinson MD et al. (2010), *Bioinformatics*, 26(1), 139-140], за которым следовал анализ представленности набора генов с помощью fgsea [Gennady Korotkevich et al., doi: <https://doi.org/10.1101/060012>] и получение наборов из нескольких генов из MSigDB [Arthur Liberson et al., *Bioinformatics*, Vol 27, 12:1739-1740]. Сигнатуру нейровоспаления согласно Human Phenotype Ontology [Köhler S. et al. (2021) *Nucleic Acids Res.* 49(D1):D1207-D1217. doi: 10.1093/nar/gkaa1043] оценивали с помощью UCell [Andreatta M. et al. (2021), *Comput Struct Biotechnol J.* 19:3796-3798], и ее значимость оценивали с помощью одностороннего U-критерия Манна-Уитни.

Результаты

Ингибирование Btk у мышей с RatMOG EAE с помощью LOU064 ослабляет нейровоспаление в клетках микроглии

При проведении анализа профиля головного и спинного мозга мышей с RatMOG EAE, получавших LOU064 или обычный корм, с использованием scRNA-послед., авторы настоящего изобретения идентифицировали 13 различных типов клеток, включая стромальные клетки (фибробласты, эндотелиальные клетки), все основные типы иммунных клеток, рекрутируемые в ЦНС (B-клетки, T-клетки, DC, моноциты и макрофаги), и резидентные клетки ЦНС: нейроны, нейроэпителиальные клетки, астроциты, олигодендроциты и микроглию, которую авторы настоящего изобретения дополнительно подразделяли на HM и DAM.

После идентификации генов, экспрессия которых отличалась у животных, обработанных с помощью LOU064, и контрольных животных, в 13 типах клеток, авторы настоящего изобретения исследовали, влияет ли LOU064 на генную сигнатуру нейровоспаления (полученные из Human Phenotype Ontology) в микроглии, и наблюдали значимое снижение для большинства параметров (фигура 23).

Пример 10. Оценка модулирования иммунного ответа на три различных типа вакцин при одновременном и прерываемом введении ремибрутиниба у здоровых субъектов

Цели и соответствующие конечные точки

Цель(-и)

Конечная(-ые) точка(-и)

Цель(-и)	Конечная(-ые) точка(-и)
Основная(-ые) цель(-и)	Конечная(-ые) точка(-и) для основной(-ых) цели(-ей)
<p>Оценить не меньшую эффективность при одновременном и прерываемом лечении ремибрутинибом в отношении иммунного ответа после вакцинации у здоровых участников по сравнению с плацебо для:</p> <p>Т-клеточно-зависимой вакцины (сезонный грипп, четырехвалентная вакцина);</p> <p>Т-клеточно-независимой вакцины (PPV-23, Pneumovax[®], Merck & Co. Inc., США).</p>	<p>Достижение ответа, где ответ определяется следующим образом:</p> <p>грипп: >4-кратное увеличение титров антител к гемагглютнину через 28 дней (день 43) после вакцинации по сравнению с исходным уровнем (т. е. сероконверсия);</p> <p>PPV-23: >2-кратное увеличение титров иммуноглобулина G (IgG) через 28 дней (день 43) после вакцинации по сравнению с исходным уровнем.</p>
Вторичная(-ые) цель(-и)	Конечная(-ые) точка(-и) для вторичной(-ых) цели(-ей)
<p>Оценить эффект при одновременном и прерываемом лечении ремибрутинибом в отношении иммунного ответа после вакцинации у здоровых участников по сравнению с плацебо для Т-клеточно-зависимой вакцины de novo (KLH, Immucothel[®])</p> <p>Изучить безопасность и переносимость ремибрутиниба при введении в дозе 100 мг b.i.d. в течение вплоть до 35 дней у здоровых участников</p> <p>Изучить безопасность и переносимость вариантов вакцинации, проводимой у здоровых участников, получающих ремибрутиниб</p> <p>Оценить РК ремибрутиниба в дозе, составляющей 100 мг b.i.d.</p>	<p>Т-клеточно-зависимый гуморальный иммунный ответ, измеренный по титрам IgG и IgM к KLH через 28 дней после вакцинации (день 43)</p> <p>Все оценки безопасности (включая показатели жизненно важных функций, ЭКГ, лабораторные параметры безопасности и АЕ)</p> <p>Все оценки безопасности (включая показатели жизненно важных функций, ЭКГ, лабораторные параметры безопасности и АЕ)</p> <p>РК-параметры: AUC_{tau} (только день 15), AUC_{last}, C_{max}, T_{max}</p>

План исследования

Общая схема

Это рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование имеет схему с параллельными группами. Приблизительно 90 здоровых участников женского пола, у которых отсутствует репродуктивный потенциал, и мужского пола рандомизируют в любую из трех групп лечения, чтобы получить как минимум 72 поддающихся оценке пациента, завершивших исследование, учитывая предполагаемую частоту выбывания до 20%. Исследование будет состоять из 28-дневного периода скрининга, 43-дневного периода лечения, за которым следует оценка завершения исследования (день 57) в течение двух недель после последнего введения исследуемого лекарственного средства. Телефонный звонок последующего наблюдения для оценки безопасности проводят примерно через 30 дней после последнего введения исследуемого лекарственного средства (день 73). Участникам предоставляется место проживания в дни от -1 до 1 и дни 14-17. В общей сложности максимальная продолжительность исследования для каждого участника составляет приблизительно 85 дней.

Влияние сценариев с одновременным и прерываемым лечением ремибрутинибом для Influenza/Pneumovax[®] 23 и Immucotel[®] оценивают по сравнению с плацебо.

Проведение исследования

Скрининг и определение исходного уровня

Участники, соответствующие критериям включения при скрининге, будут допущены к оценкам для определения исходного уровня в день -1. Все результаты оценки безопасности на исходном уровне должны быть доступны до первого введения дозы. На исходном уровне участников рандомизируют в одну из трех групп лечения, описанных ниже.

Лечение

Все участники получают исследуемое лекарственное средство (ремибрутиниб 100 мг или плацебо b.i.d.) с дня 1 по день 42 и возвращаются в клинику для визита окончания лечения в день 43. Все участники также получают четырехвалентную вакцину против гриппа, вакцину PPV-23 и неоантигенную вакцину с KLN в день 15. Вакцинацию следует проводить через 3 часа после введения исследуемого лекарственного средства.

Во время клинических визитов и во время проживания (дни с -1 по 1 и дни с 14 по 17) исследуемое лекарственное средство участникам вводит исследовательский персонал в клинике. После завершения клинических визитов в период лечения исследуемое лекарственное средство предоставляется участникам для самостоятельного введения на дому вместе с дневником приема лекарственных препаратов.

Оценки безопасности будут включать физикальные обследования, ЭКГ, показатели жизненно важных функций, стандартные клинические лабораторные оценки (общий анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи), мониторинг нежелательных явлений и серьезных нежелательных явлений.

У всех участников в день 8, день 15 и день 36 будет взято несколько образцов крови для оценки фармакокинетики ремибрутиниба.

Группа А (одновременное лечение ремибрутинибом)

Участники будут получать плацебо (b.i.d.) в дни 1-7 с последующим лечением ремибрутинибом (100 мг b.i.d.) в дни 8-15 исследования для достижения равновесного состояния РК/PD перед введением трех вакцин в день 15. Участники будут продолжать получать ремибрутиниб (100 мг b.i.d.) до дня 42.

Группа В (прерываемое лечение ремибрутинибом)

Участники будут получать ремибрутиниб по 100 мг b.i.d. в дни 1-7 для достижения равновесного состояния РК/PD с последующим введением плацебо (b.i.d.) в дни 8-28, а в день 15 им будут введены три вакцины. Лечение ремибрутинибом в дозе 100 мг b.i.d. будет возобновлено с дня 29 по день 42.

Группа С (плацебо)

Участники группы С будут получать плацебо (b.i.d.) в дни 1-42 и будут вакцинированы 3 вакцинами в день 15 в условиях плацебо.

Ключевые критерии включения

Подписанное информированное согласие должно быть получено перед участием в исследовании.

Здоровые или с незначительным ожирением, но в остальном здоровые участники мужского пола и женского пола, у которых отсутствует репродуктивный потенциал, в возрасте от 18 до 55 лет (включительно).

Участники должны иметь хорошее здоровье, определяемое анамнезом, физикальным обследованием, показателями жизненно важных функций, ЭКГ и лабораторными тестами во время визита скрининга и исходного уровня, как указано.

При скрининге и определении исходного уровня оценку показателей жизненно важных функций (систолическое и диастолическое артериальное давление и частота сердечных сокращений) будут осуществлять в положении сидя и снова (если того требует график оценки) в положении стоя. Показатели жизненно важных функций в положении сидя (после 3 минут в положении сидя) должны находиться в пределах следующих диапазонов:

тимпанальная температура тела от 35,0 до 37,5 °C;

систолическое артериальное давление (SBP) от 90 до 139 мм рт. ст. (включительно);

диастолическое артериальное давление (DBP) от 50 до 89 мм рт. ст. (включительно);

частота сердечных сокращений от 45 до 90 уд./мин (включительно).

Для участия в исследовании участники должны весить по меньшей мере 50 кг и должны характеризоваться индексом массы тела (BMI) в диапазоне от 18 до 34,9 кг/м².

Участники должны выразить согласие на пребывание в центре проведения клинических исследований в соответствии с требованиями протокола и соблюдать требования/инструкции, изложенные в форме информированного согласия.

Способность читать, говорить и понимать местный язык, понимать и выполнять требования исследования.

Ключевые критерии исключения

1. Применение других исследуемых лекарственных средств в течение 5 периодов полувыведения или 30 дней до первого введения дозы, в зависимости от того, что дольше.

2. Имеющиеся в настоящее время или ранее в медицинском анамнезе клинически значимые нарушения ЭКГ или наличие в семейном анамнезе (бабушки и дедушки, родители, братья и сестры) синдрома удлиненного интервала QT или других нарушений сердечной проводимости, наличие в анамнезе дополнительных факторов риска развития двунаправленной желудочковой тахикардии (TdP) (например, сердечной недостаточности, гипокалиемии) и/или известные из анамнеза или имеющиеся в настоящее время клинически значимые варианты аритмии. Нарушение ЭКГ, определяемое как $PR > 220$ мс, комплекс QRS > 120 мс, для мужчин и женщин $QTcF > 450$ мс или любые другие морфологические изменения, кроме ранней реполяризации, неспецифических изменений S- T или зубца T.

3. Присутствие в анамнезе или наличие злокачественного образования в какой-либо системе органов (кроме локализованной базальноклеточной карциномы кожи или рака шейки матки *in situ*), подвергавшегося или не подвергавшегося лечению в течение последних 5 лет, независимо от того, имеются ли признаки местного рецидива или метастазирования.

4. Присутствие в анамнезе или наличие любого клинически значимого заболевания любого главного класса систем органов и органов, включая (без ограничения) сердечно-сосудистые, легочные, метаболические, печеночные, почечные, гематологические, эндокринные, неврологические или психиатрические заболевания, которые не были устранены в течение двух недель до начала введения доз.

5. Гиперчувствительность к ремибрутинибу или лекарственным средствам того же класса соединений или его вспомогательным веществам.

6. Любое противопоказание к применению вакцины Pneumovax 23, вакцины против гриппа или вакцины с КЛН, включая любую острую инфекцию, лихорадку, реакции гиперчувствительности или известную гиперчувствительность к любому соответствующему компоненту вакцин, которые будут вводиться в этом исследовании (например, куриному яйцу или моллюскам/КЛН).

7. Присутствие в анамнезе вакцинации вакциной против сезонного гриппа 2022-2023 гг. или известный клинический диагноз инфекции гриппа в течение сезона гриппа 2022-2023 гг. до включения в исследование.

8. Присутствие в анамнезе предыдущего воздействия КЛН или иммунизации им.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. LOU064 или его фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении рассеянного склероза.
2. LOU064 для применения по п. 1, где LOU064 вводится перорально в дозе, составляющей от приблизительно 50 мг до приблизительно 150 мг два раза в день.
3. LOU064 для применения по п. 1 или п. 2, где LOU064 вводится перорально в дозе, составляющей приблизительно 100 мг два раза в день.
4. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где лечение представляет собой долгосрочное лечение.
5. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где рассеянный склероз выбран из рецидивирующего рассеянного склероза, в частности клинически изолированного синдрома (CIS), рецидивирующе-ремиттирующего рассеянного склероза (RRMS) и вторично-прогрессирующего рассеянного склероза (SPMS), в частности активного SPMS.
6. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где пациент переводится с лекарственного средства, представляющего собой предшествующее средство терапии, модифицирующее течение заболевания, на LOU064.
7. LOU064 для применения по п. 6, где лекарственное средство, представляющее собой предшествующее средство терапии, модифицирующее течение заболевания, выбрано из ингибитора В-клеток и/или Т-клеток: терифлуномида, митоксантрона, диметилфумарата, кладрибина, финголимода, сипонимода, понесимода, глатирамера ацетата и интерферона (например, бета-интерферона).
8. LOU064 для применения по п. 6 или п. 7, где предшествующее средство терапии, модифицирующее течение заболевания, является недостаточно эффективным.
9. LOU064 для применения по любому из пп. 6-8, где у пациента имеется непереносимость предшествующего средства терапии, модифицирующего течение заболевания.
10. LOU064 для применения по любому из пп. 6-9, где прием предшествующего средства терапии, модифицирующего течение заболевания, прекращается до начала введения LOU064.
11. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где LOU064 выбирается, если пациентка планирует забеременеть в течение следующих 12 месяцев.
12. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где LOU064 выбирается, если пациенту предстоит пройти химиотерапию в течение следующих 12 месяцев.
13. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где лечение представляет собой монотерапию.
14. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где LOU064 не вводится одновременно с сильным ингибитором СYP3A.
15. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где LOU064 не

вводится одновременно с сильным индуктором СУР3А4.

16. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где осуществляется лечение пациента с острой инфекцией COVID-19 или пациента, у которого эта инфекция была ранее.

17. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где лечение продолжается во время инфекции COVID-19.

18. LOU064 для применения по любому из пп. 1-16, где лечение прерывается во время инфекции COVID-19 и продолжается после преодоления этой инфекции.

19. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где лечение представляет собой лечение, при назначении которого не учитываются этнические признаки.

20. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где LOU064 вводится после рецидива.

21. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где LOU064 вводится после обнаружения по меньшей мере одного Gd+ очага поражения.

22. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где LOU064 вводится после обнаружения новых или увеличивающихся очагов поражения T2.

23. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где пациент является взрослым человеком.

24. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где у пациента наблюдается достижение по меньшей мере одного из следующего:

- уменьшение среднего общего количества очагов поражения при контрастировании гадолинием по сравнению с пациентами, не получавшими лечения, и/или по сравнению с пациентами, получающими другое средство лечения, модифицирующее течение заболевания, выбранное из интерферона, терифлуномида, глатирамера ацетата и диметилфумарата, предпочтительно из интерферона, терифлуномида и диметилфумарата, более предпочтительно из терифлуномида или интерферона,

- снижение частоты рецидивов в годовом исчислении по сравнению с пациентами, не получавшими лечения, и/или по сравнению с пациентами, получающими другое средство лечения, модифицирующее течение заболевания, выбранное из интерферона, терифлуномида, глатирамера ацетата и диметилфумарата, предпочтительно из интерферона, терифлуномида и диметилфумарата, более предпочтительно из терифлуномида или интерферона,

- более длительное время для достижения 3-месячного подтвержденного прогрессирования инвалидизации по сравнению с пациентами, получающими другое средство лечения, модифицирующее течение заболевания, выбранное из интерферона, терифлуномида, глатирамера ацетата и диметилфумарата, предпочтительно из интерферона, терифлуномида и диметилфумарата, более предпочтительно из терифлуномида или интерферона,

в течение вплоть до 24 месяцев, предпочтительно 12-24 месяцев лечения.

25. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где к неделе 12 или к неделе 24 лечения уровни аланинаминотрансферазы (ALT), аспартатаминотрансферазы (AST) и липазы не изменяются на более чем 10% по сравнению с исходным уровнем в начале терапии.

26. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где лечение является по меньшей мере таким же эффективным в отношении снижения годичной частоты рецидивов, как и средство терапии, обеспечивающее истощение по CD20.

27. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где пациент вакцинируется во время терапии с помощью LOU064, в частности вакцинируется неживыми вакцинами.

28. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где LOU064 вводится в форме подходящего фармацевтического состава для перорального применения, содержащего частицы LOU064 нанометрового размера.

29. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где LOU064 вводится в форме подходящего фармацевтического состава для перорального применения, содержащего частицы LOU064 нанометрового размера, характеризующиеся средним размером частиц, измеренным с помощью PCS, составляющим от приблизительно 50 нм до приблизительно 750 нм.

30. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где LOU064 вводится в форме подходящего фармацевтического состава для перорального применения, содержащего LOU064 и связующее вещество при весовом соотношении, составляющем приблизительно 2: 1.

31. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где LOU064 вводится в форме подходящего фармацевтического состава для перорального применения, содержащего LOU064, связующее вещество и поверхностно-активное вещество при весовом соотношении, составляющем приблизительно 2: 1: 0,08.

32. LOU064 для применения по любому из пп. 1-29, где LOU064 вводится в форме подходящего фармацевтического состава для перорального применения, содержащего LOU064 и связующее вещество при весовом соотношении, составляющем приблизительно 1: 1.

33. LOU064 для применения по любому из пп. 1-29 и п. 32, где LOU064 вводится в форме подходящего фармацевтического состава для перорального применения, содержащего LOU064, связующее вещество и поверхностно-активное вещество при весовом соотношении, составляющем приблизительно 1: 1: 0,05.

34. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где LOU064 вводится в форме подходящего фармацевтического состава для перорального применения, содержащего LOU064, сополимер поливинилпирролидона и винилацетата в качестве связующего вещества и лаурилсульфат натрия в качестве поверхностно-активного вещества.

35. LOU064 для применения по любому из предыдущих пунктов, где LOU064 вводится совместно с контрацептивами для перорального применения.

36. LOU064 для изготовления лекарственного препарата для применения в лечении рассеянного склероза, где лекарственный препарат предпочтительно вводится перорально в дозе, составляющей от приблизительно 50 мг до приблизительно 150 мг два раза в день.

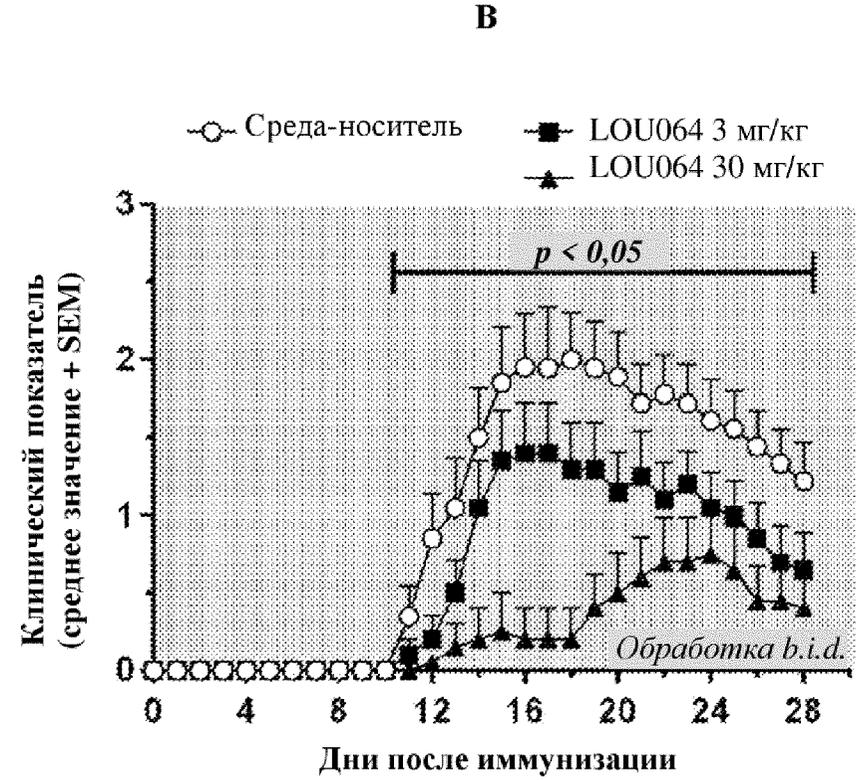
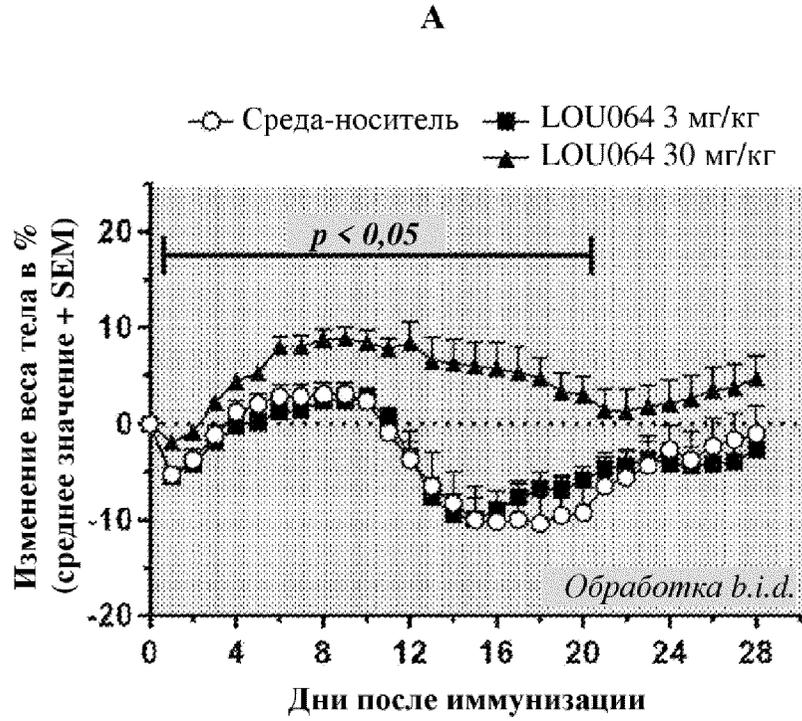
37. Способ лечения или предупреждения рассеянного склероза, предусматривающий введение терапевтически эффективной пероральной дозы LOU064 пациенту, нуждающемуся в таком лечении.

38. Способ по п. 37, где терапевтически эффективная доза составляет от приблизительно 50 мг до приблизительно 150 мг два раза в день.

39. Способ по п. 37 или п. 38, где рассеянный склероз выбран из рецидивирующего рассеянного склероза, в частности клинически изолированного синдрома (CIS), рецидивирующе-ремиттирующего рассеянного склероза (RRMS) и вторично-прогрессирующего рассеянного склероза (SPMS), в частности активного SPMS.

По доверенности

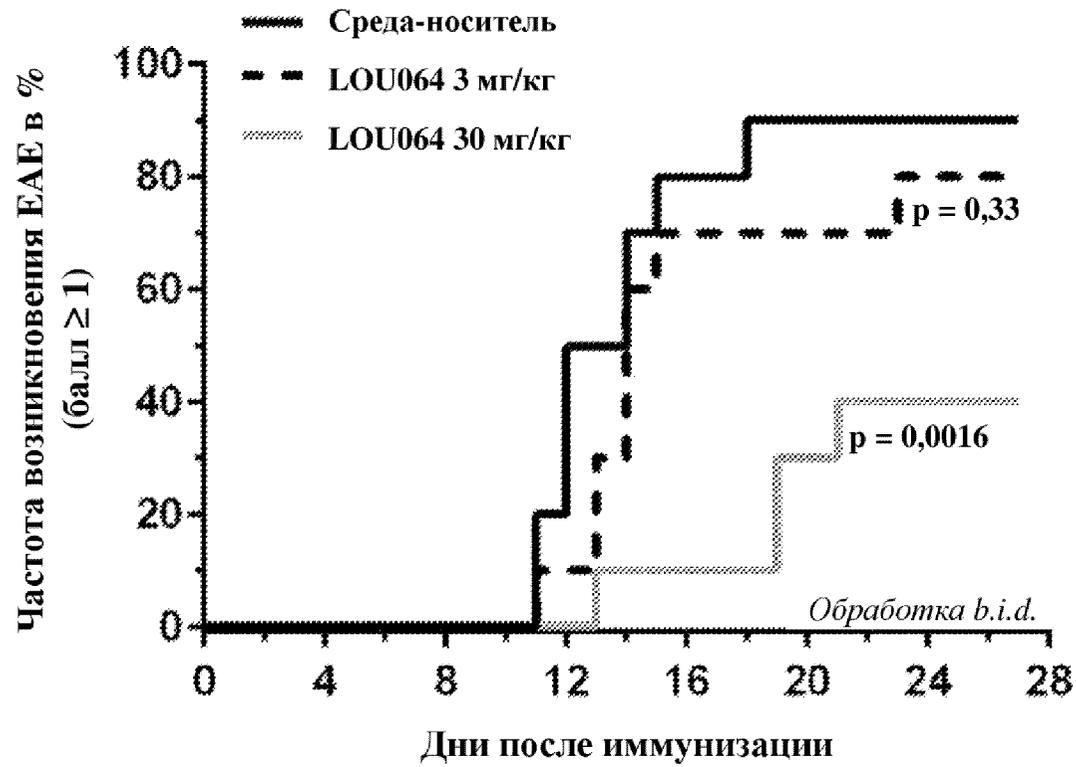
Фигура 1



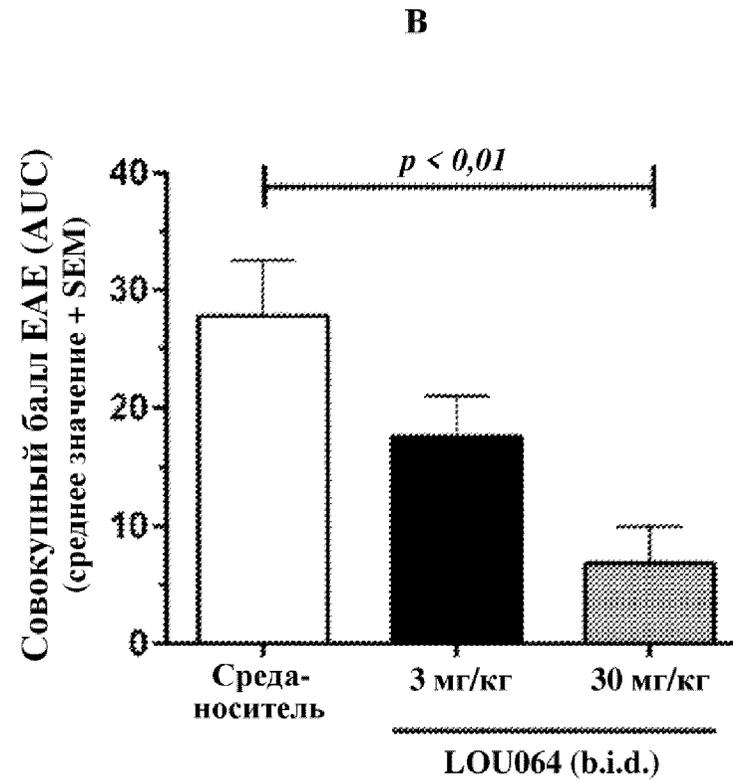
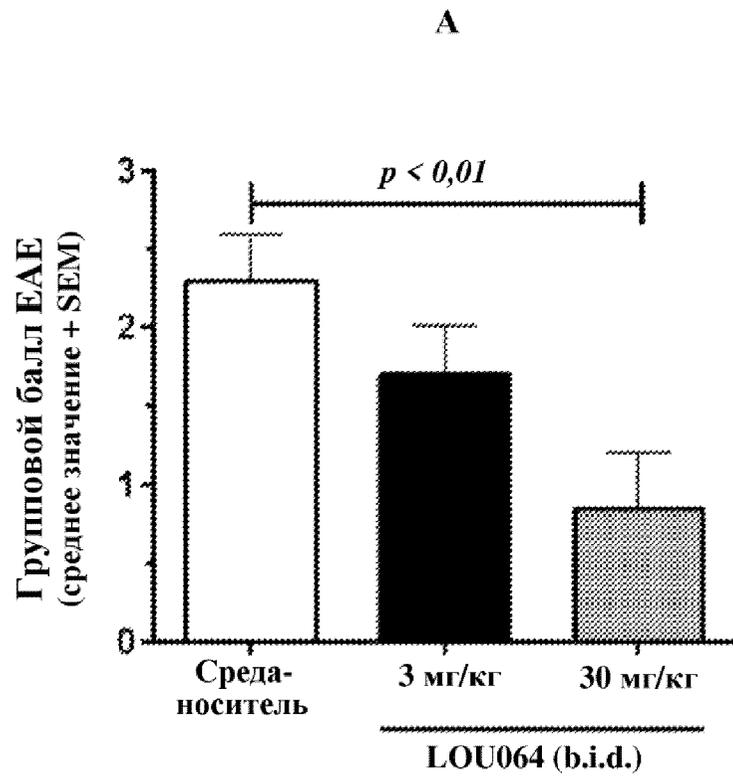
1/24

580641

Фигура 2

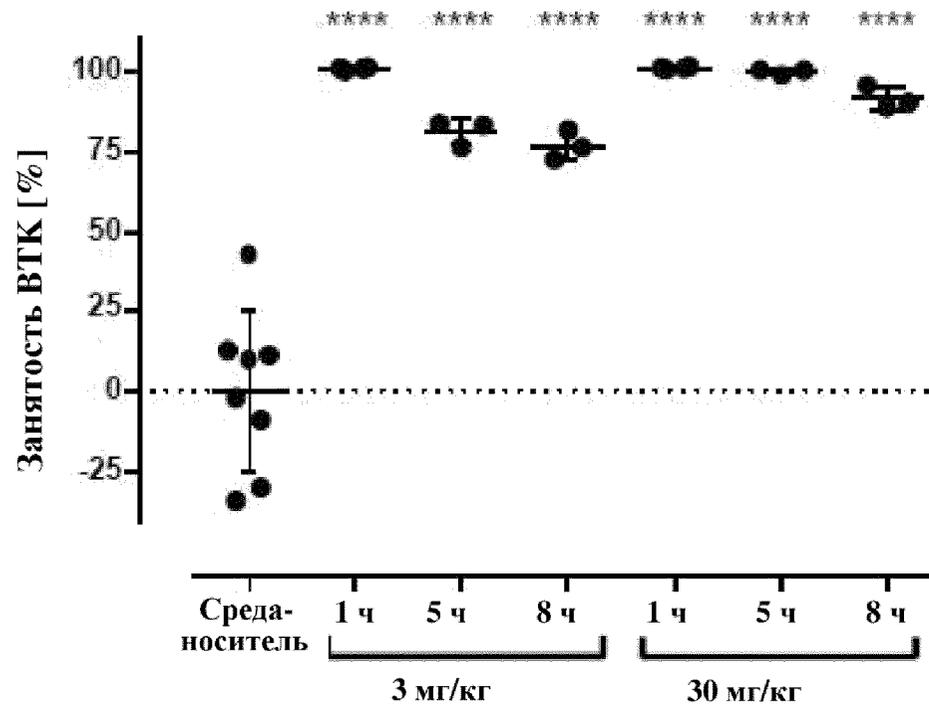


Фигура 3



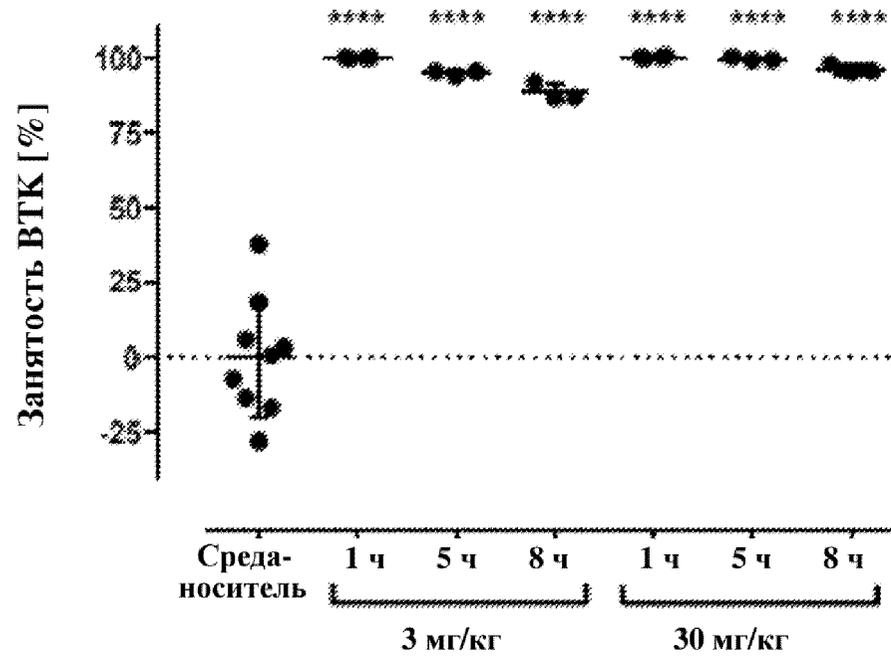
Фигура 4

Занятость ВТК в селезенке



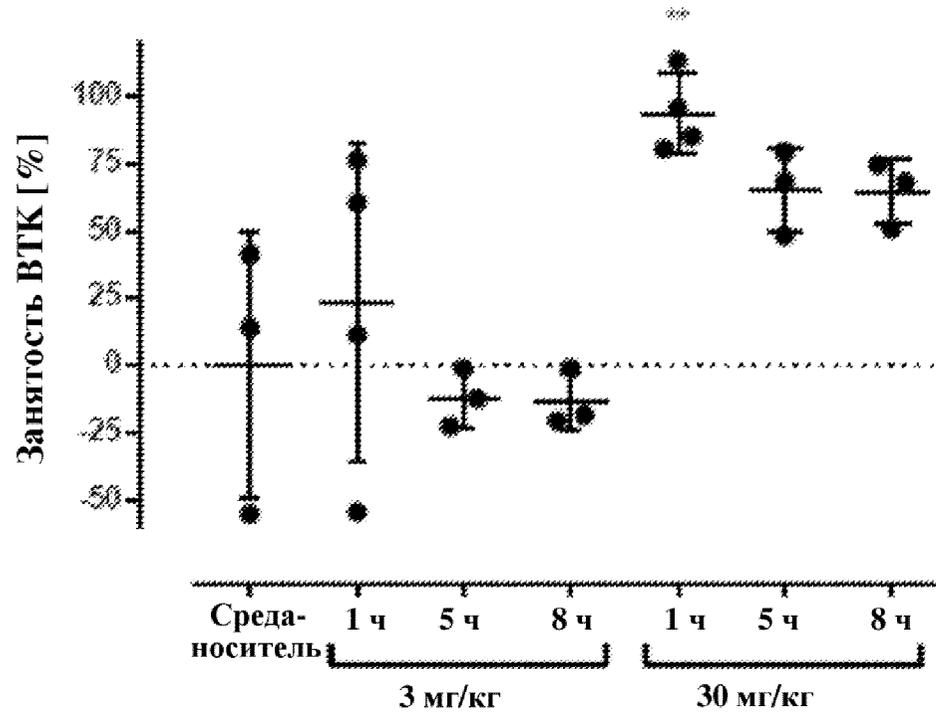
Фигура 5

Занятость ВТК в лимфатических узлах

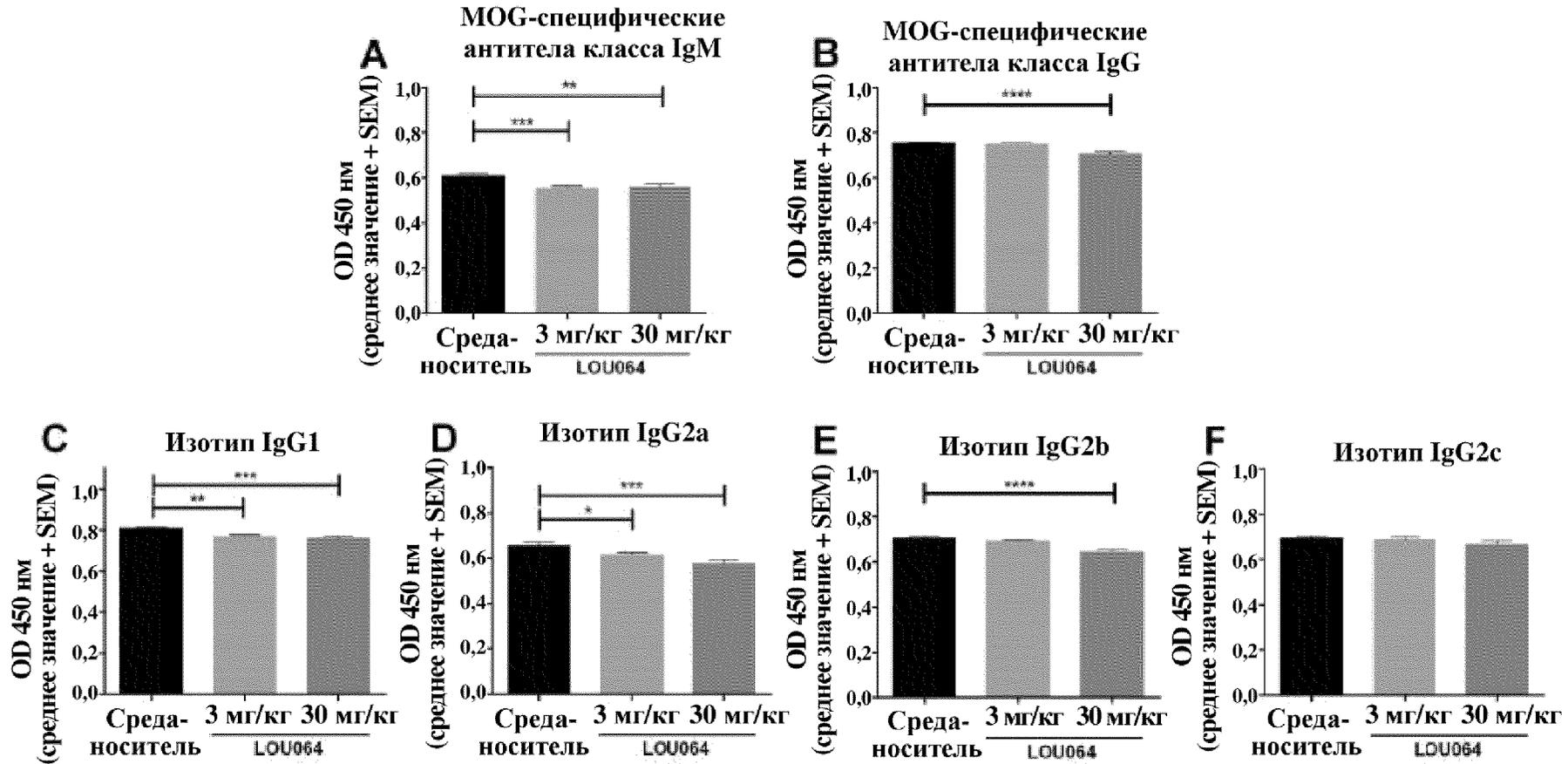


Фигура 6

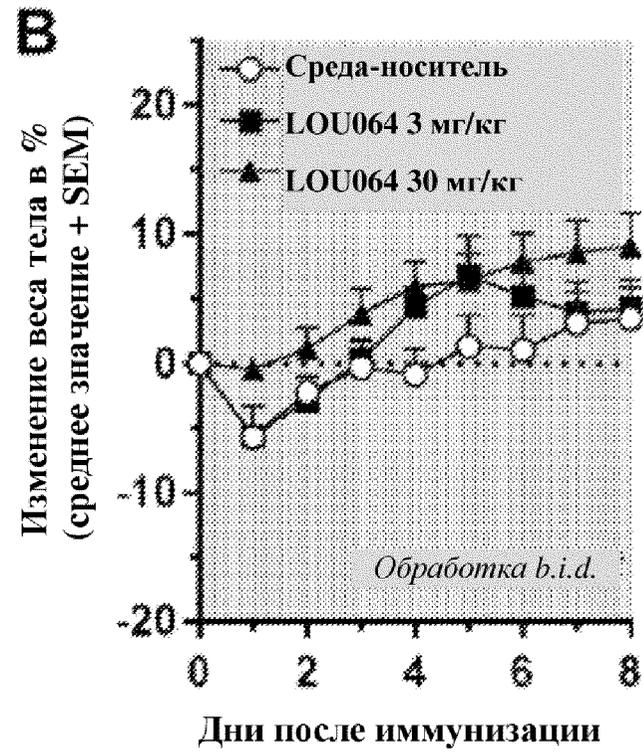
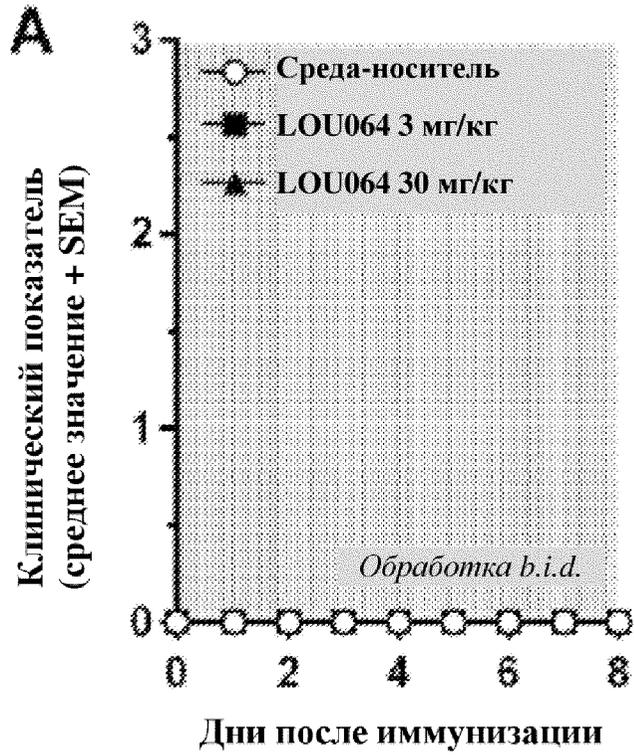
Занятость ВТК в гомогенате мозга



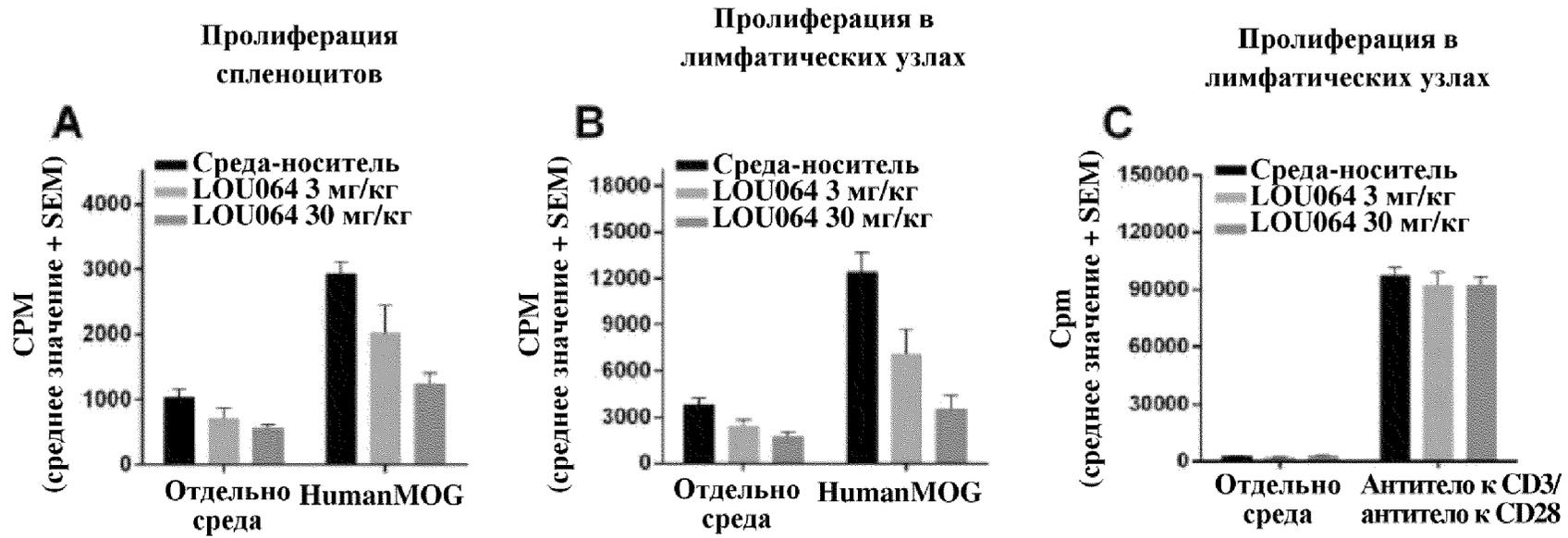
Фигура 7



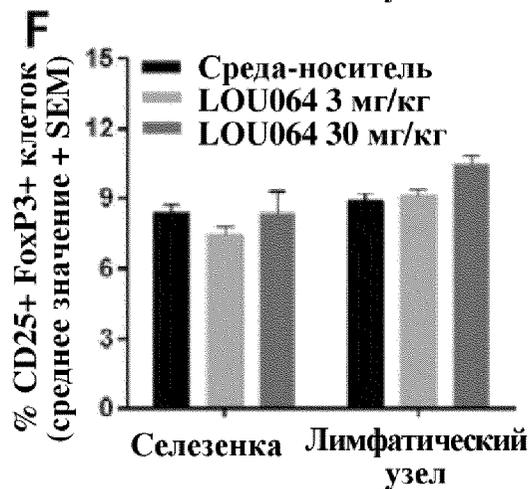
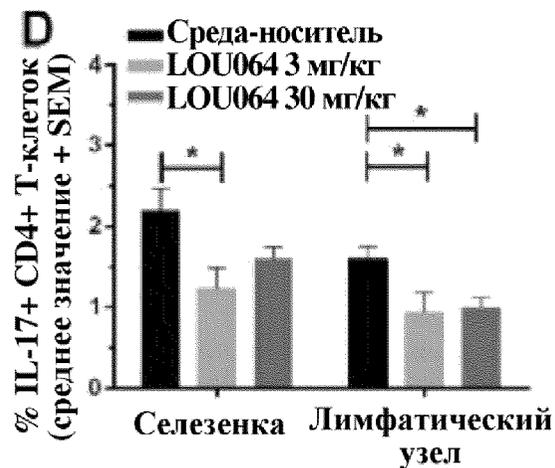
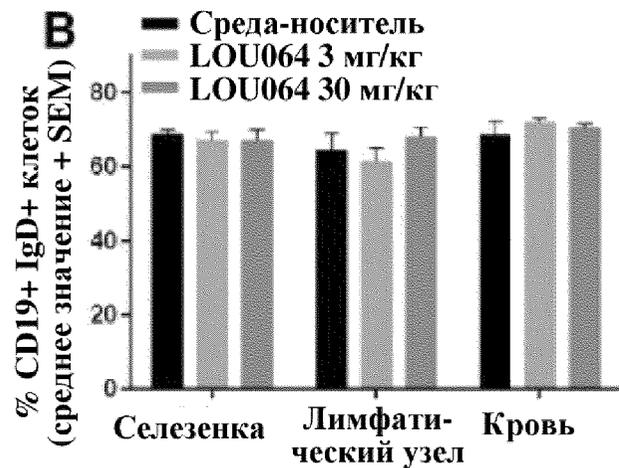
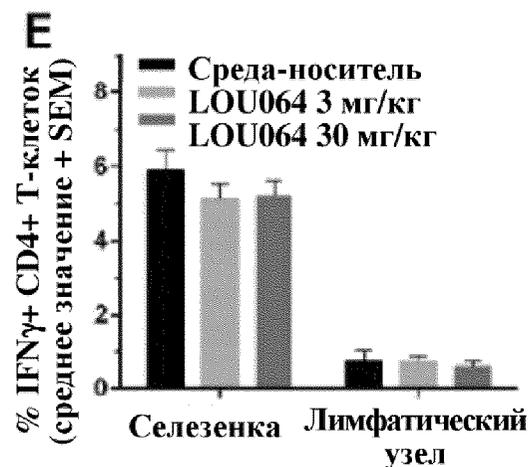
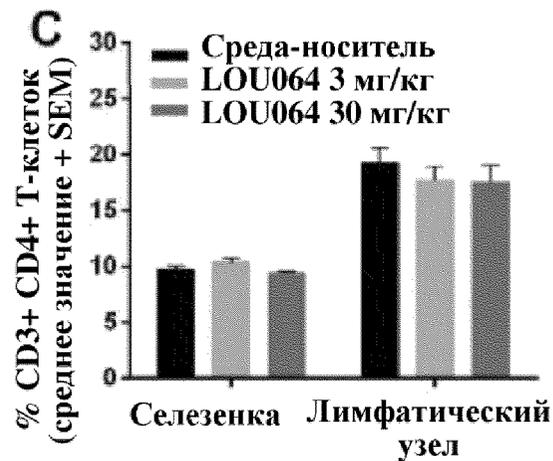
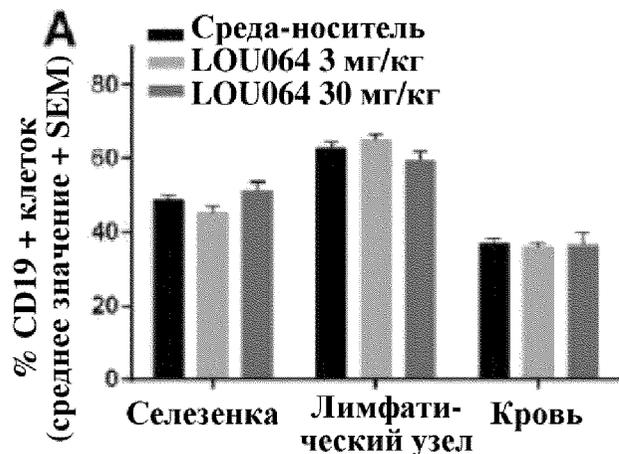
Фигура 8



Фигура 9

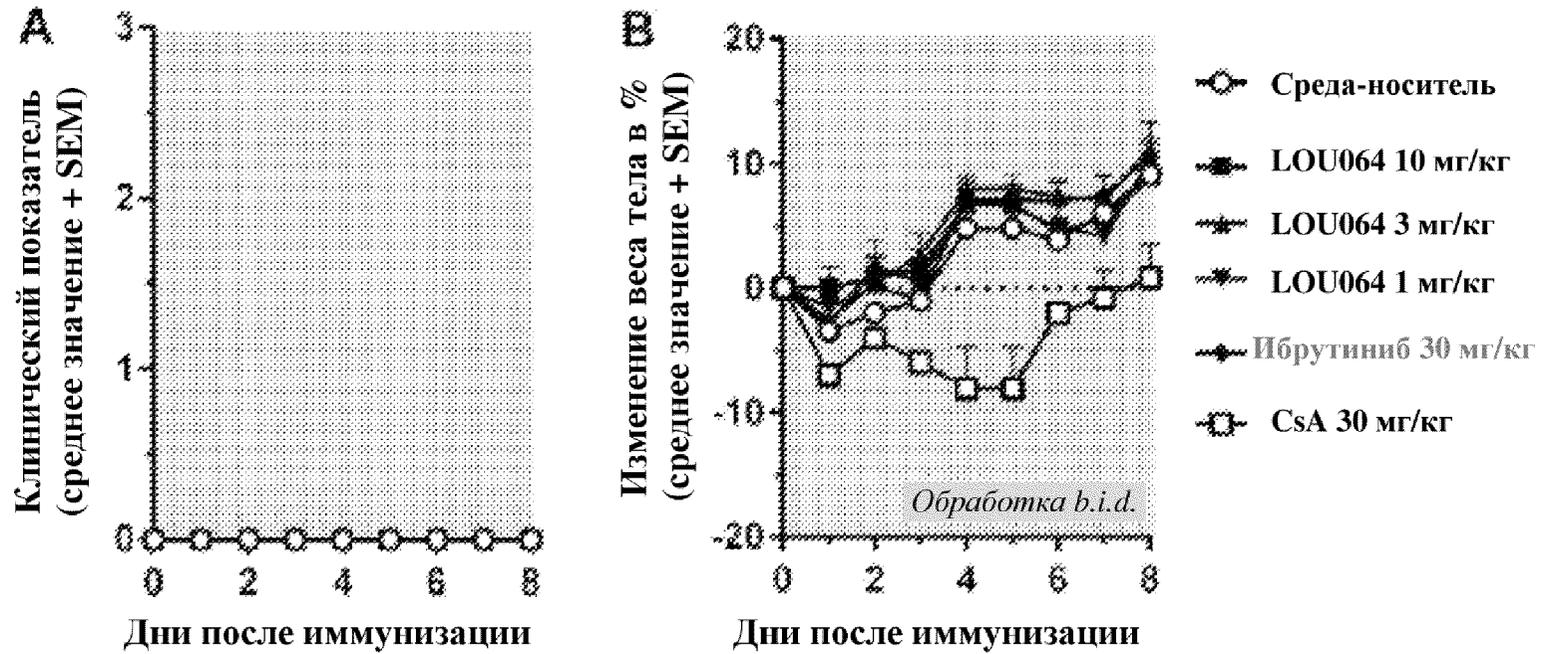


Фигура 10

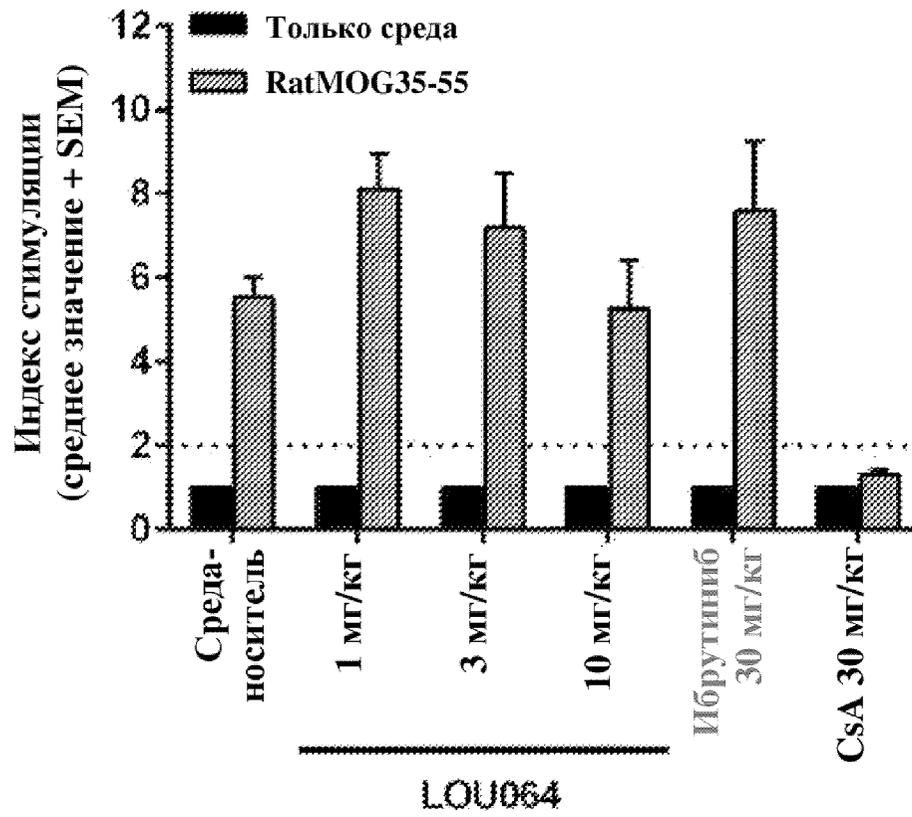


10/24

Фигура 11

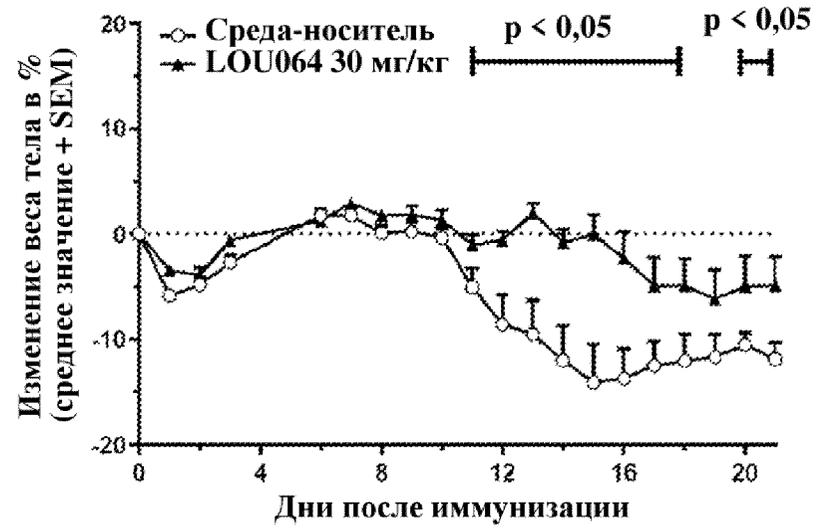


Фигура 12

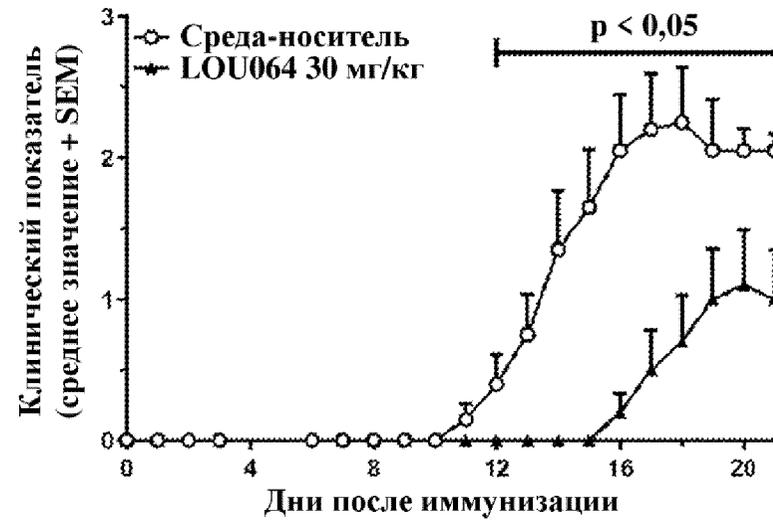


Фигура 13

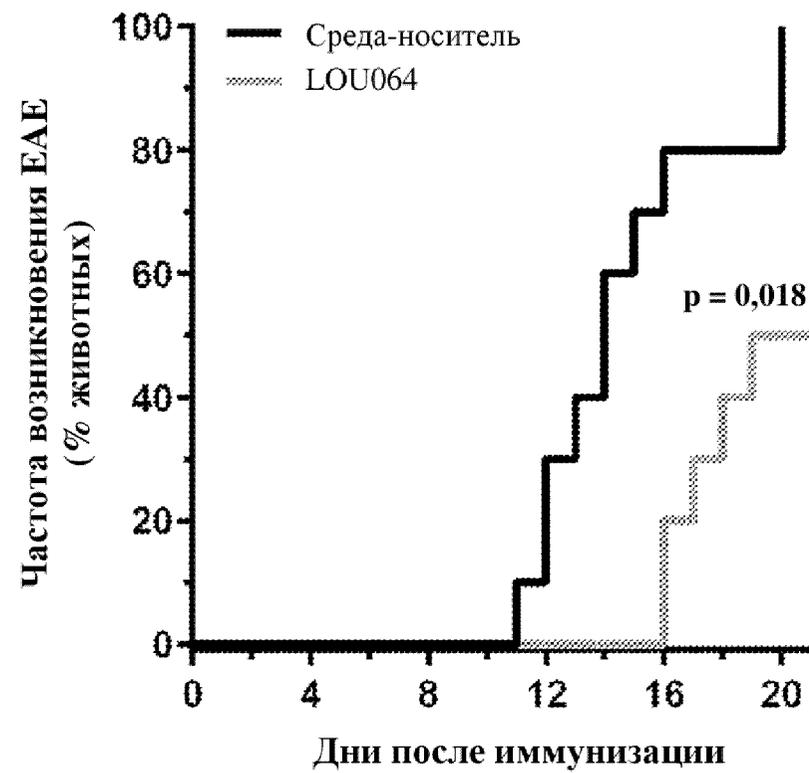
A



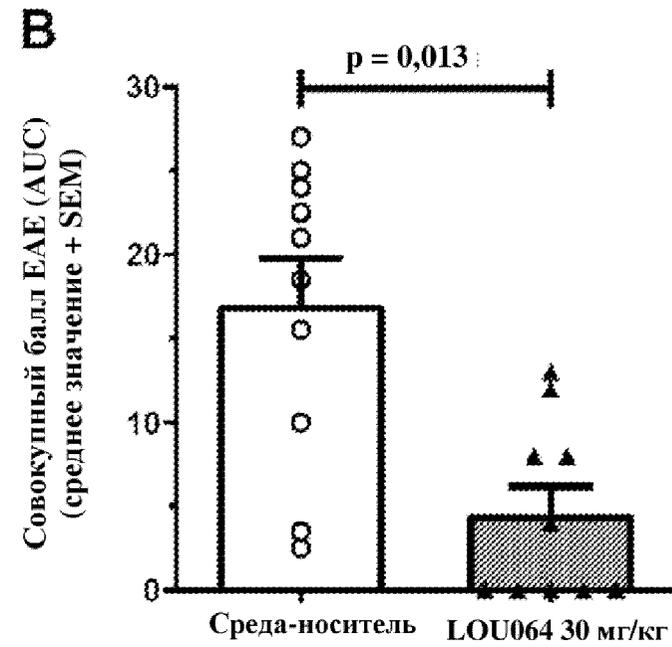
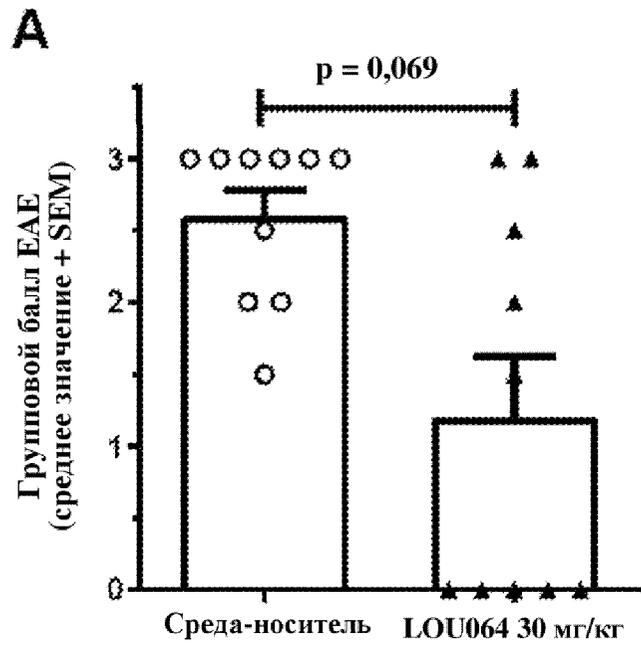
B



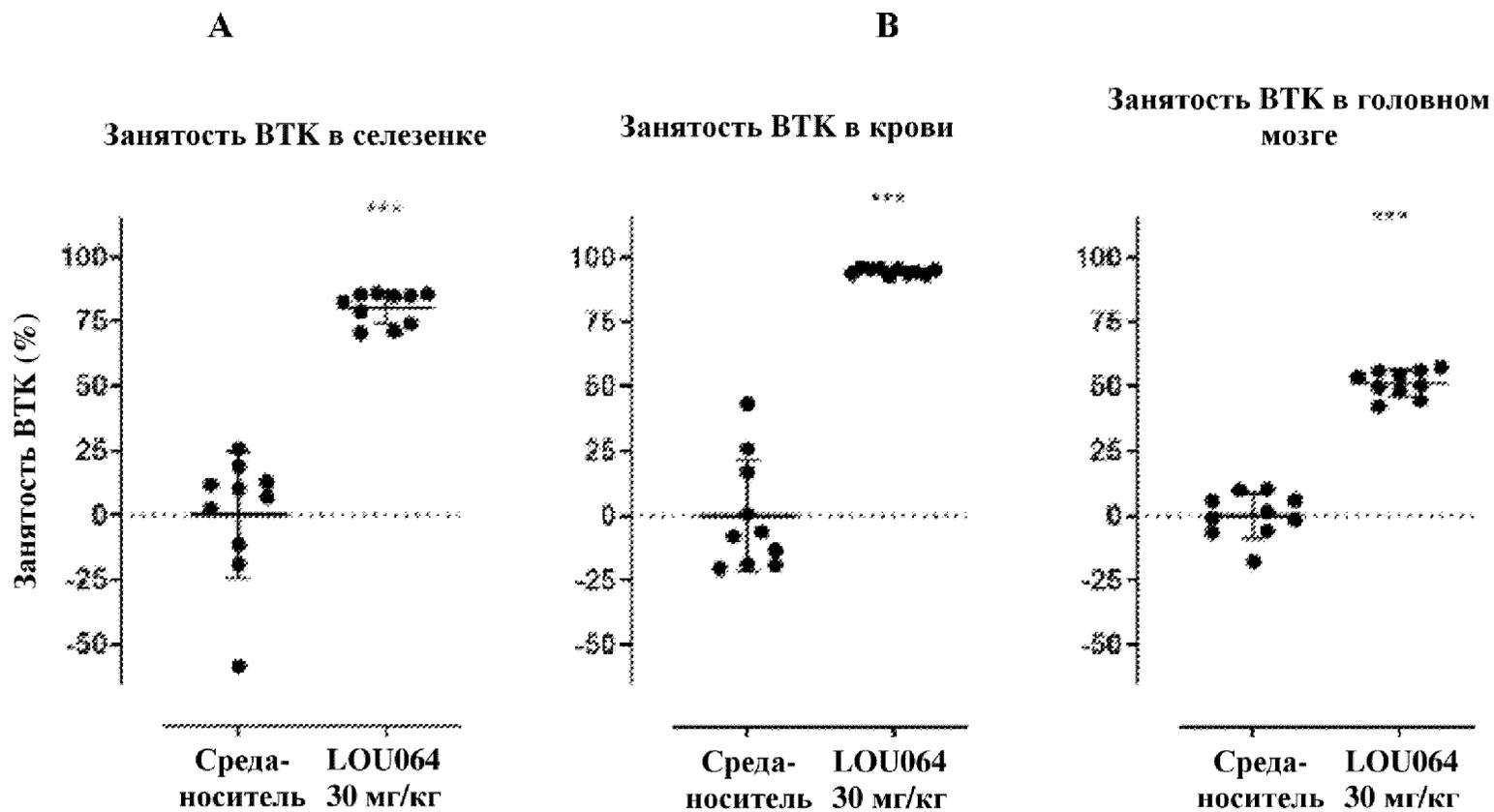
Фигура 14



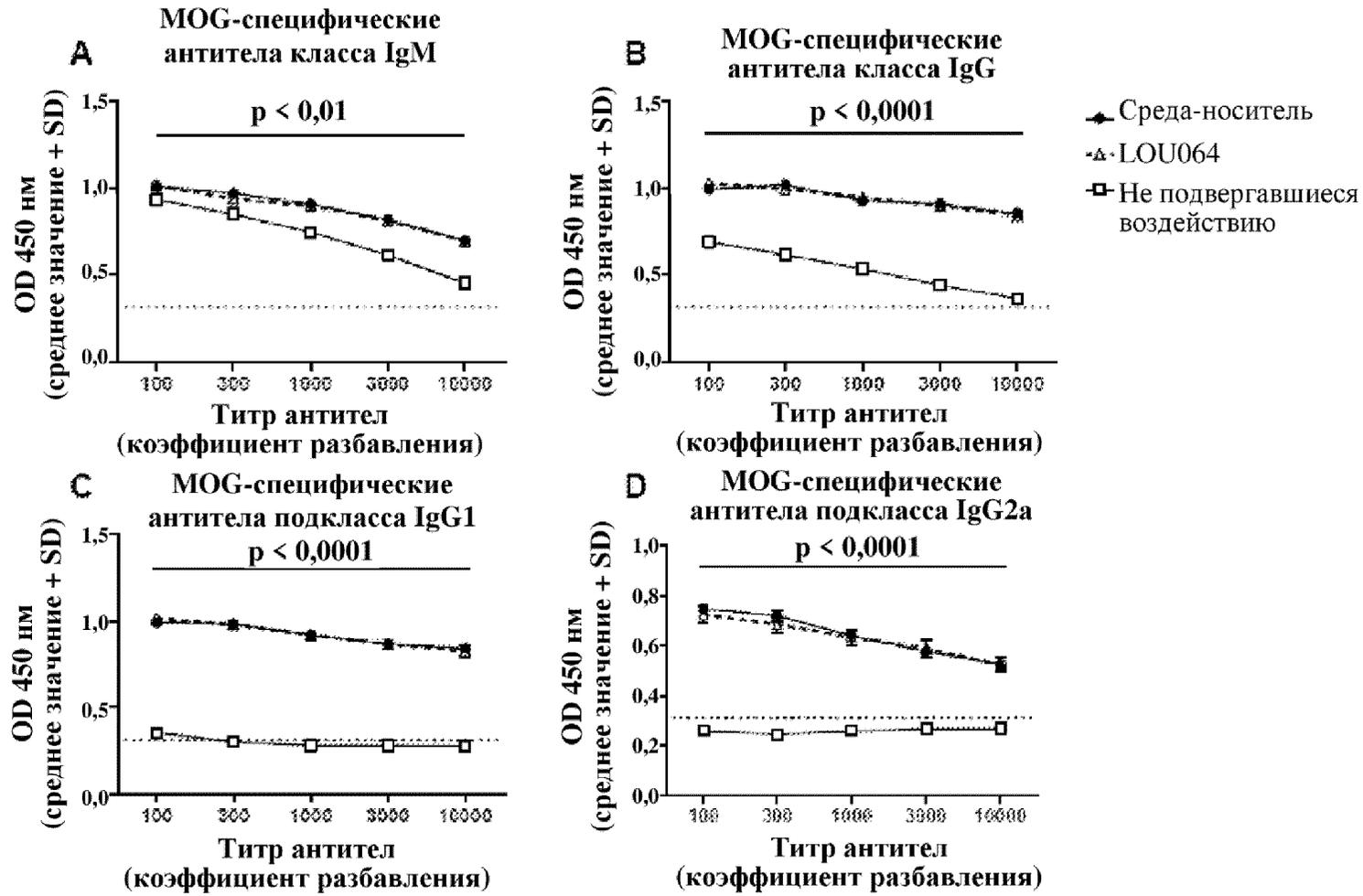
Фигура 15



Фигура 16

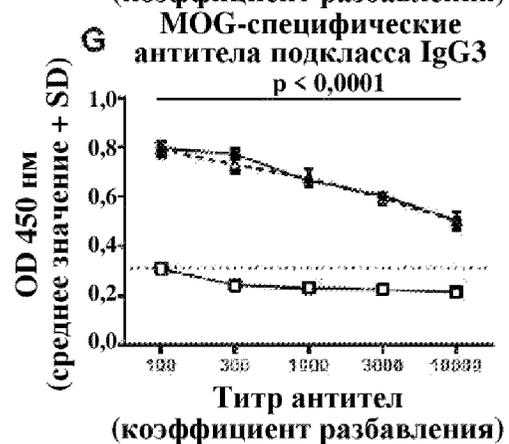
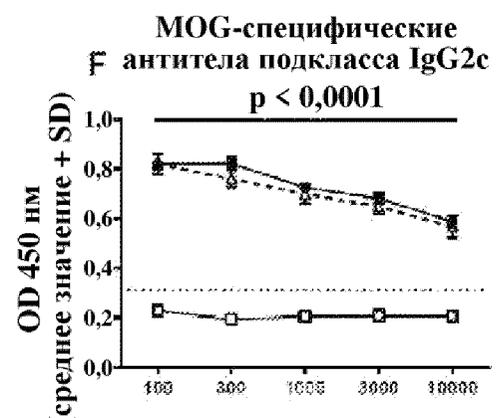
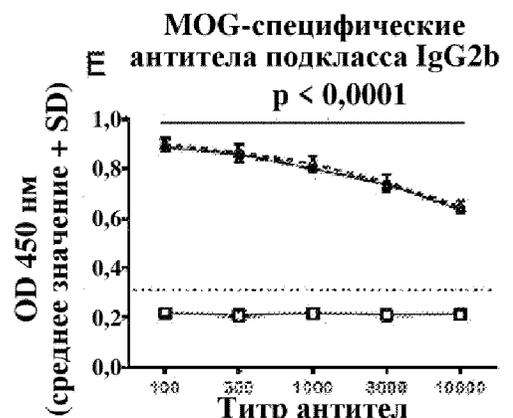


Фигура 17 (А-Д)

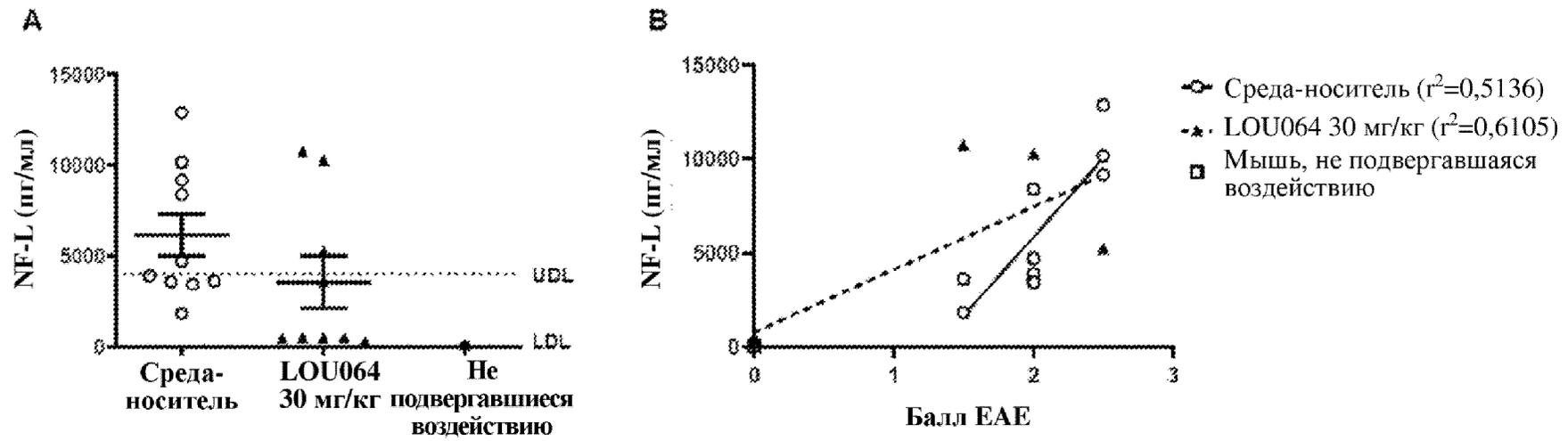


Фигура 17 (E-G)

- ◆ Среда-носитель
- ▲ LOU064
- Не подвергавшиеся воздействию

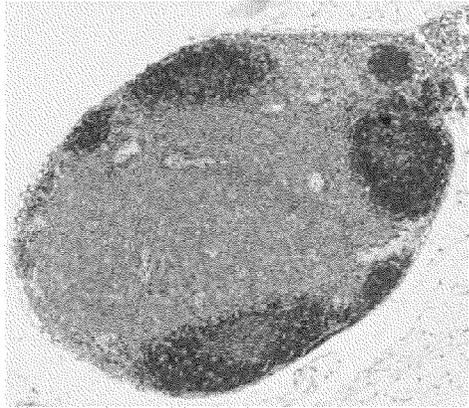


Фигура 18

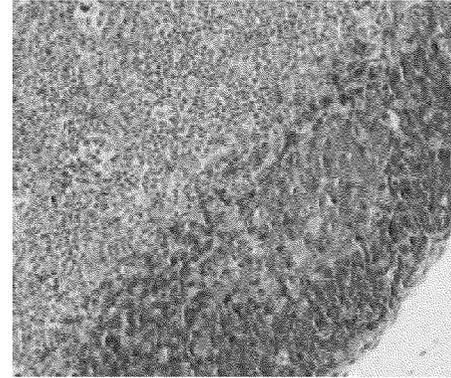


Фигура 19

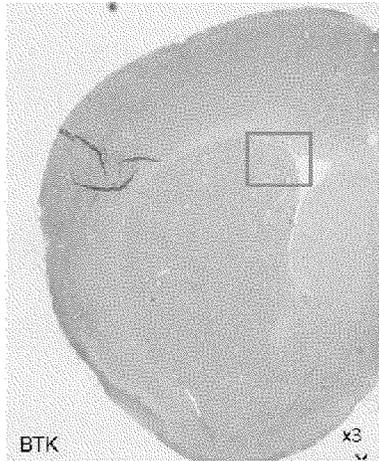
A



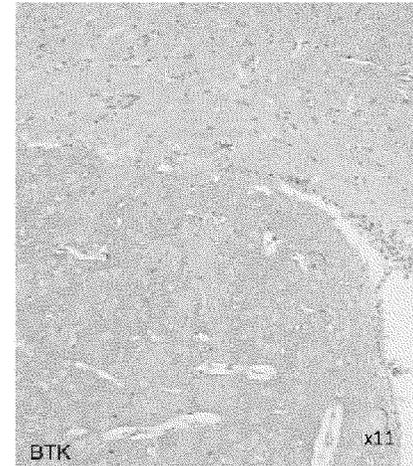
B



C

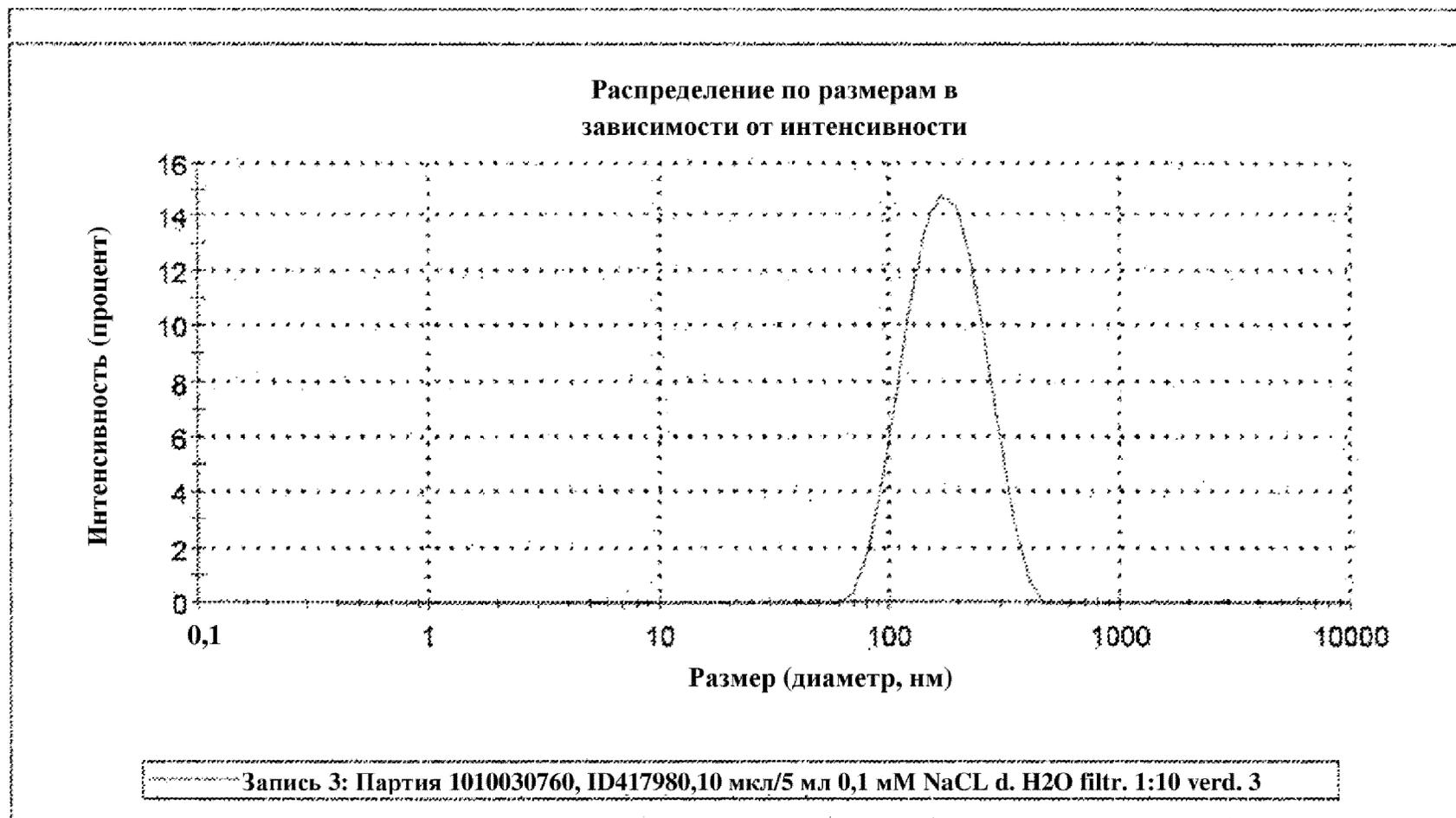


D

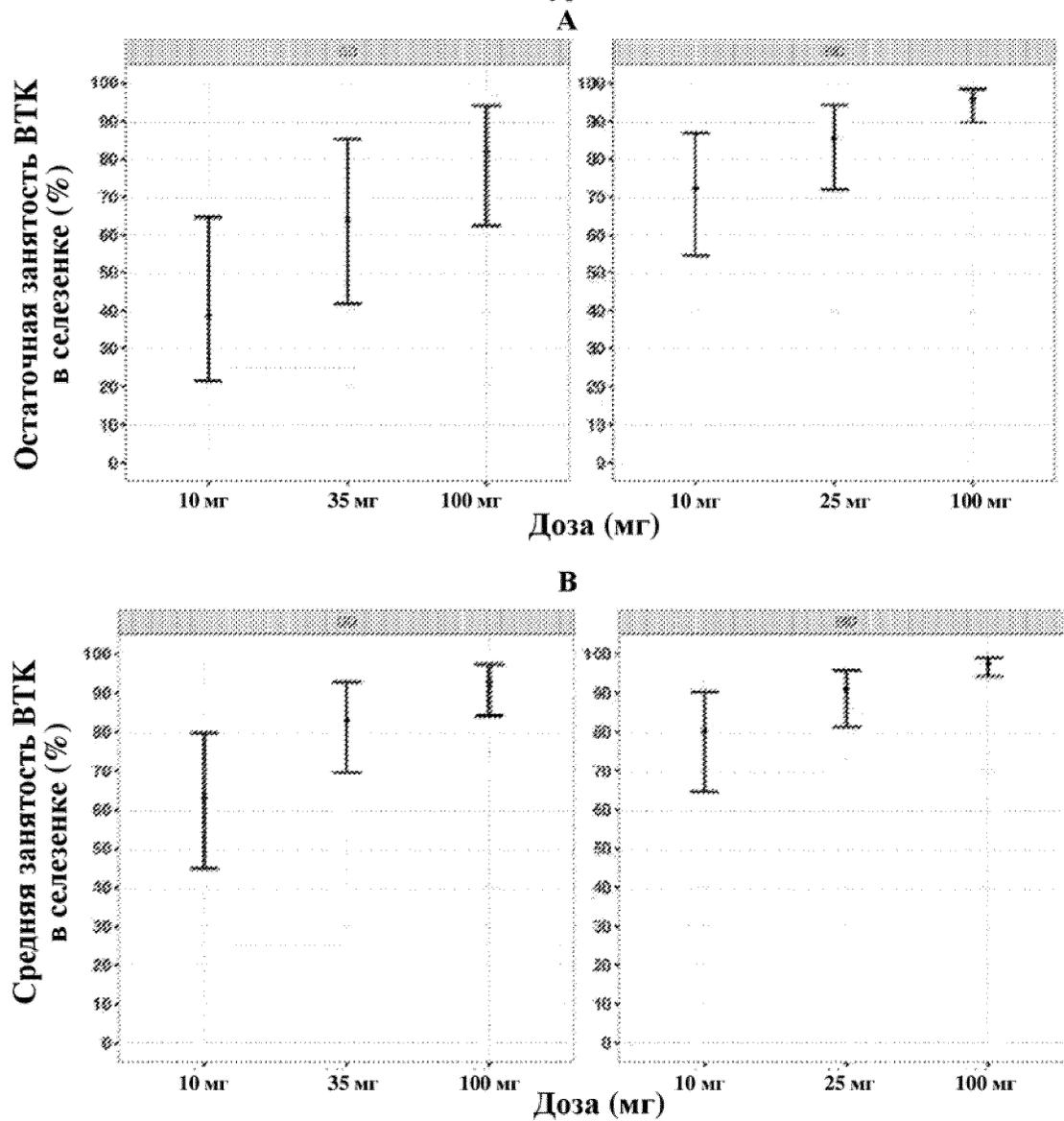


20/24

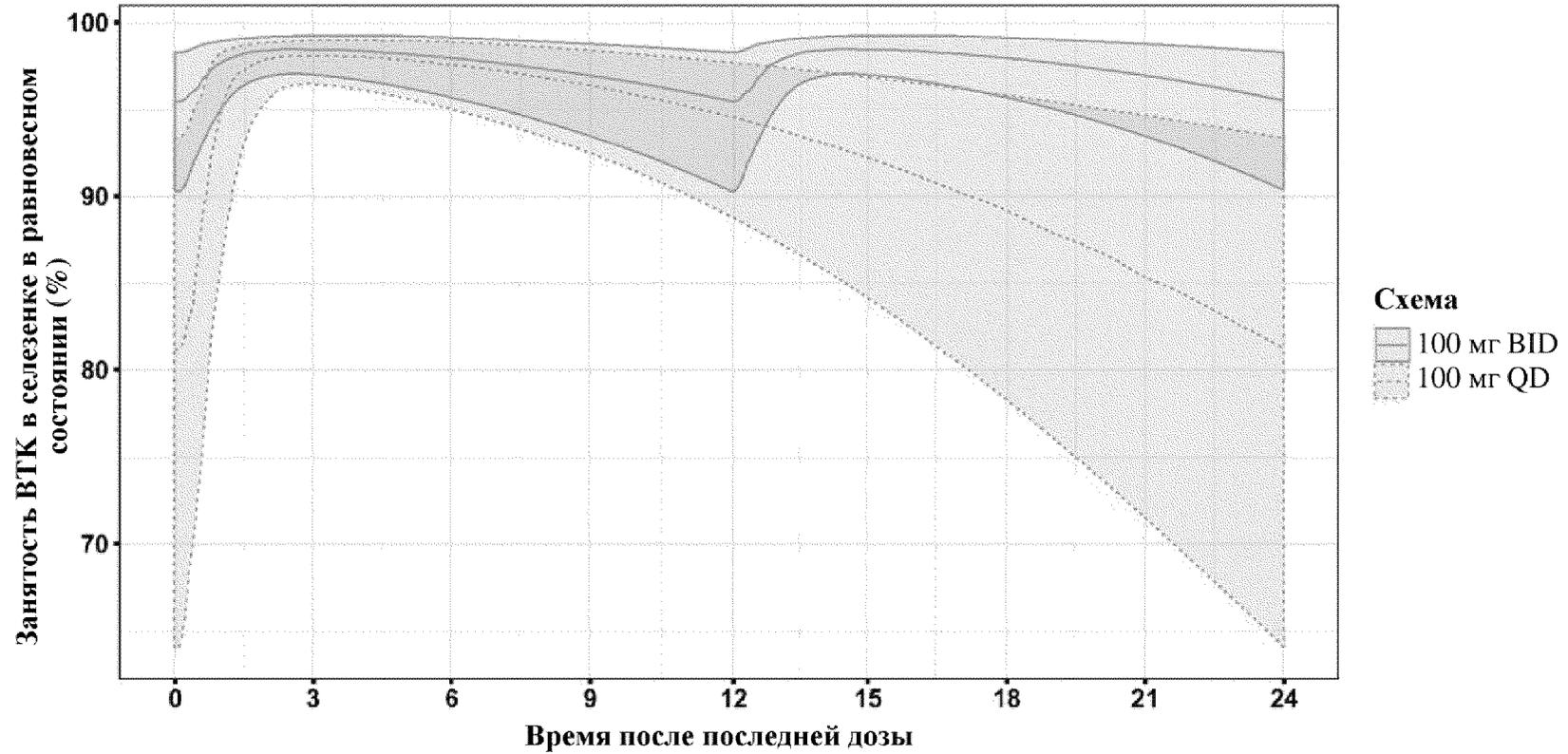
Figure 20



Фигура 21



Фигура 22



Заштрихованные области представляют собой 50% предсказательный интервал. Линия внутри каждой заштрихованной области представляет собой соответствующую медиану

Фигура 23

