

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491489 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.09.27

(22) Дата подачи заявки
2023.01.19

(51) Int. Cl. A61K 38/12 (2006.01)
A61K 31/4184 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
A61K 31/47 (2006.01)
A61K 31/497 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
C07K 7/02 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(54) ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИЛИ
ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ РАКА

(31) 2022-008247; 22196417.4

(32) 2022.01.21; 2022.09.19

(33) JP; EP

(86) PCT/JP2023/001552

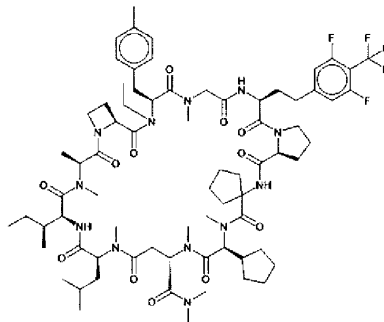
(87) WO 2023/140329 2023.07.27

(71) Заявитель:
ЧУГАИ СЕЙЯКУ КАБУСИКИ
КАЙСЯ (JP)

(72) Изобретатель:
Сасе Хитоси, Хирано Саки (JP)

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

(57) В изобретении описано лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент, и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение, описываемое приведенной ниже формулой (1), или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является молекулярно-направленное средство.



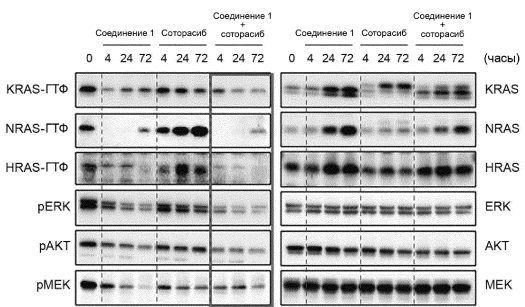
(1)

A1

202491489

202491489

A1



202491489

A1

A1

684164707

ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИЛИ
ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ РАКА

5

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к лекарственному средству,
предназначенному для лечения или предупреждения рака.

Уровень техники

10

Рак представляет собой заболевание, при котором происходит
нерегулируемая пролиферация клеток вследствие возникновения аномалий в
генах. Химиотерапия представляет собой процедуру медицинского лечения рака
и использовали целый ряд противораковых средств. В последние годы было
разработано большое количество молекулярно-направленных средств,

15

использующихся в качестве противораковых средств, которые специфично
воздействуют на молекулы, специфически экспрессирующиеся в определенных
раковых клетках, или на молекулы, экспрессия которых в раковых клетках
усилена. Известные молекулярно-направленные средства включают

20

лекарственные средства на основе антител, такие как цетуксимаб, бевацизумаб и
панитумумаб (патентная литература 1), и малые молекулы - лекарственные
средства, такие как гефитиниб, эрлотиниб и афатиниб (патентная литература 2).
Кроме того, в последние годы также стали известны обладающие средним
размером молекулы - лекарственные средства (патентная литература 3).

Список цитированной литературы

25

Патентная литература

Патентная литература 1: Japanese Unexamined Patent Publication No. 2018-076369

Патентная литература 2: Japanese Unexamined Patent Publication No. 2021-063014

Патентная литература 3: International Publication No. WO 2021/090855

Краткое изложение сущности изобретения

30

Техническая задача

В связи с этим, необходимо лекарственное средство, обладающее еще
лучшей эффективностью при лечении или предупреждении рака.

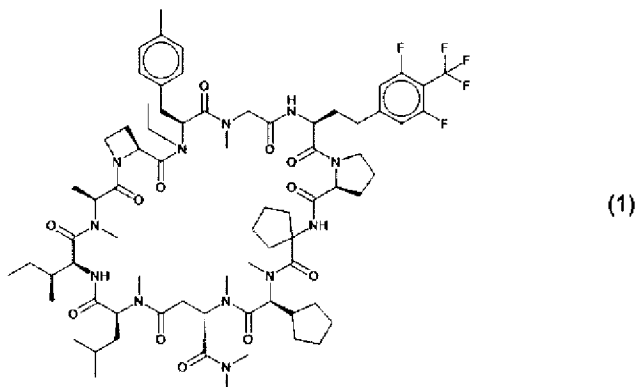
Поэтому задачей настоящего изобретения является разработка лекарственного средства, которое обладает улучшенной эффективностью при лечении или предупреждении рака по сравнению с эффективностью средств предшествующего уровня техники.

5 Решение задачи

В объем настоящего изобретения входят следующие параграфы [1]-[94]:

[1] Лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение, описываемое приведенной ниже формулой (1) (ниже в настоящем изобретении также называемое "соединением 1"), или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является молекулярно-направленное средство.

[Формула 1]



15 [2] Лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является молекулярно-направленное средство, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

20 [3] Лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его

25

сольват, и вторым активным ингредиентом является ингибитор пути MAPK/ERK.

5 [4] Лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является ингибитор пути MAPK/ERK, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

10 [5] Лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является один, выбранный из группы, состоящей из следующих: ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, 15 ингибитор SHP2, ингибитор KRAS-G12C и ингибитор MEK.

[6] Лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является один, выбранный из группы, 20 состоящей из следующих: ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, ингибитор SHP2, ингибитор KRAS-G12C и ингибитор MEK, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

[7] Лекарственное средство, соответствующее любому из параграфов [1] - 25 [6], где первый активный ингредиент и второй активный ингредиент предоставлены в виде набора.

[8] Способ лечения или предупреждения рака, способ включает введение субъекту первого активного ингредиента и второго активного ингредиента, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является молекулярно-направленное 30 средство.

[9] Способ лечения или предупреждения рака, способ включает введение субъекту первого активного ингредиента и второго активного ингредиента, где первым активным ингредиентом является молекулярно-направленное средство, и

вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

5 [10] Способ лечения или предупреждения рака, способ включает введение субъекту первого активного ингредиента и второго активного ингредиента, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является ингибитор пути MAPK/ERK.

10 [11] Способ лечения или предупреждения рака, способ включает введение субъекту первого активного ингредиента и второго активного ингредиента, где первым активным ингредиентом является ингибитор пути MAPK/ERK, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

15 [12] Способ лечения или предупреждения рака, способ включает введение субъекту первого активного ингредиента и второго активного ингредиента, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является один, выбранный из группы, состоящей из следующих: ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, ингибитор SHP2, ингибитор KRAS-G12C и ингибитор MEK.

20 [13] Способ лечения или предупреждения рака, способ включает введение субъекту первого активного ингредиента и второго активного ингредиента, где первым активным ингредиентом является один, выбранный из группы, состоящей из следующих: ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, ингибитор SHP2, ингибитор KRAS-G12C и ингибитор MEK, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

25 [14] Первый активный ингредиент, предназначенный для применения для лечения или предупреждения рака, первый активный ингредиент применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является молекулярно-направленное средство.

30 [15] Первый активный ингредиент, предназначенный для применения для лечения или предупреждения рака, первый активный ингредиент применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является молекулярно-направленное средство, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

[16] Первый активный ингредиент, предназначенный для применения для лечения или предупреждения рака, первый активный ингредиент применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является ингибитор пути MAPK/ERK.

[17] Первый активный ингредиент, предназначенный для применения для лечения или предупреждения рака, первый активный ингредиент применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является ингибитор пути MAPK/ERK, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

[18] Первый активный ингредиент, предназначенный для применения для лечения или предупреждения рака, первый активный ингредиент применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является один, выбранный из группы, состоящей из следующих: ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, ингибитор SHP2, ингибитор KRAS-G12C и ингибитор MEK.

[19] Первый активный ингредиент, предназначенный для применения для лечения или предупреждения рака, первый активный ингредиент применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является один, выбранный из группы, состоящей из следующих: ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, ингибитор SHP2, ингибитор KRAS-G12C и ингибитор MEK, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

[20] Применение первого активного ингредиента для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения или предупреждения рака, первый активный ингредиент применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является молекулярно-направленное средство.

[21] Применение первого активного ингредиента для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения или предупреждения рака, первый активный ингредиент применяют в комбинации с вторым активным

ингредиентом, где первым активным ингредиентом является молекулярно-направленное средство, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

5 [22] Применение первого активного ингредиента для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения или предупреждения рака, первый активный ингредиент применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является ингибитор пути MAPK/ERK.

10 [23] Применение первого активного ингредиента для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения или предупреждения рака, первый активный ингредиент применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является ингибитор пути MAPK/ERK, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его
15 соль, или его сольват.

[24] Применение первого активного ингредиента для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения или предупреждения рака, первый активный ингредиент применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или
20 его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является один, выбранный из группы, состоящей из следующих: ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, ингибитор SHP2, ингибитор KRAS-G12C и ингибитор MEK.

[25] Применение первого активного ингредиента для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения или предупреждения
25 рака, первый активный ингредиент применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является один, выбранный из группы, состоящей из следующих: ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, ингибитор SHP2, ингибитор KRAS-G12C и ингибитор MEK, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

30 [26] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где комбинированным применением первого активного ингредиента и второго активного ингредиента является одновременное введение

или раздельное введение (т. е. первый активный ингредиент и второй активный ингредиент применяют в комбинации одновременно или раздельно).

5 [27] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [26], где первый активный ингредиент и второй активный ингредиент применяют в комбинации в виде комбинированного лекарственного средства.

10 [28] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1], [2], [7], [8], [9], [14], [15], [20], [21], [26] и [27], где молекулярно-направленным средством является ингибитор пути MAPK/ERK.

15 [29] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1], [2], [7], [8], [9], [14], [15], [20], [21], [26], [27] и [28], где молекулярно-направленным средством является по меньшей мере одно, выбранное из группы, состоящей из следующих: ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, ингибитор SHP2, ингибитор KRAS-G12C и ингибитор MEK.

20 [30] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1], [2], [7], [8], [9], [14], [15], [20], [21], [26], [27], [28] и [29], где молекулярно-направленным средством является ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, ингибитор SHP2, ингибитор KRAS-G12C или ингибитор MEK.

25 [31] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1], [2], [7], [8], [9], [14], [15], [20], [21], [26], [27], [28], [29] и [30], где молекулярно-направленным средством является ингибитор EGFR.

30 [32] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1], [2], [7], [8], [9], [14], [15], [20], [21], [26], [27], [28], [29] и [30], где молекулярно-направленным средством является ингибитор VEGF.

[33] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому

из параграфов [1], [2], [7], [8], [9], [14], [15], [20], [21], [26], [27], [28], [29] и [30], где молекулярно-направленным средством является ингибитор SHP2.

[34] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1], [2], [7], [8], [9], [14], [15], [20], [21], [26], [27], [28], [29] и [30], где молекулярно-направленным средством является ингибитор KRAS-G12C.

[35] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1], [2], [7], [8], [9], [14], [15], [20], [21], [26], [27], [28], [29] и [30], где молекулярно-направленным средством является ингибитор MEK.

[36] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27], [29], [30] и [31], где ингибитором EGFR является по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: гефитиниб, эрлотиниб, афатиниб, осимертиниб, лапатиниб или их соли, или их сольваты, и антитела к EGFR.

[37] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27], [29], [30], [31] и [36], где ингибитором EGFR являются антитела к EGFR.

[38] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие параграфу [36] или [37], где антитела к EGFR содержат переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

[39] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [36] - [38], где антителами к EGFR является цетуксимаб.

[40] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [39],

где ингибитором VEGF является по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: сорафениб, пазопаниб, сунитиниб, акситиниб, регорафениб или их соли, или их сольваты, и антитела к VEGF.

5 [41] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [40], где ингибитором VEGF являются антитела к VEGF.

10 [42] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие параграфу [40] или [41], где антитела к VEGF содержат переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.

15 [43] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [40] - [42], где антителами к VEGF является бевацизумаб.

20 [44] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [43], где ингибитором SHP2 является по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: RMC4550, TNO155, RLY1971, SHP099, NSC-87877 и их соли, и их сольваты.

25 [45] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [44], где ингибитором SHP2 является по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: RMC4550, TNO155 и их соли, и их сольваты.

30 [46] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [45], где ингибитором SHP2 является RMC4550 или его соль, или его сольват.

[46-1] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому

из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [45], где ингибитором SHP2 является TNO155 или его соль, или его сольват.

[47] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [46], где ингибитором KRAS-G12C является по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: соторасиб, MRTX849 и их соли, и их сольваты.

[48] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [47], где ингибитором KRAS-G12C является соторасиб.

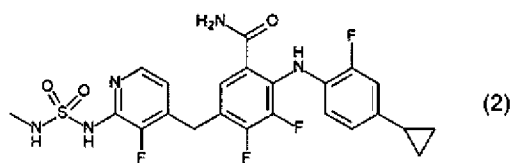
[48-1] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [47], где ингибитором KRAS-G12C является MRTX849.

[49] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [47], где ингибитором KRAS-G12C является соторасиб или его соль, или его сольват.

[49-1] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [47], где ингибитором KRAS-G12C является MRTX849 или его соль, или его сольват.

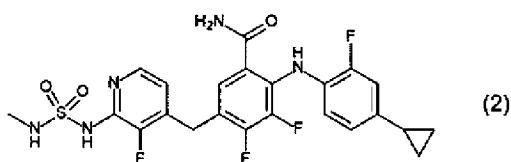
[50] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [49], где ингибитором MEK является по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: соединение, описываемое приведенной ниже формулой (2), траметиниб, селуметиниб, CN4987655 и их соли, и их сольваты.

[Формула 2]



[51] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [50], где ингибитором МЕК является соединение, описываемое приведенной ниже формулой (2), траметиниб, или их соли, или их сольваты.

[Формула 3]



[52] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [51], где ингибитором МЕК является соединение, описываемое приведенной ниже формулой (2), или его соль, или его сольват.

[53] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27] и [29] - [51], где ингибитором МЕК является траметиниб или его соль, или его сольват.

[54] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [5], [6], [7], [12], [13], [18], [19], [24], [25], [26], [27], [29] - [51] и [53], где ингибитором МЕК является траметинибдиметилсульфоксид.

[55] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [54], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является сольват соединения 1.

[56] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие параграфу [55], где сольватом является гидрат.

5 [57] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [54], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является соединение 1.

10 [58] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является гидрат соединения 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором EGFR является цетуксимаб.

15 [59] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является гидрат соединения 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором VEGF являются антитела к VEGF.

20 [60] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие параграфу [59], где антителами к VEGF является бевацизумаб.

25 [61] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является гидрат соединения 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором SHP2 является RMC4550 или его соль, или его сольват.

30 [61-1] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является гидрат соединения 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором SHP2 является TNO155 или его соль, или его сольват.

[62] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является гидрат соединения 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором SHP2 является RLY1971 или его соль, или его сольват.

[63] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является гидрат соединения 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором KRAS-G12C является соторасиб или его соль, или его сольват.

[63-1] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является гидрат соединения 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором KRAS-G12C является MRTX849 или его соль, или его сольват.

[64] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является гидрат соединения 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором MEK является соединение, описываемое приведенной ниже формулой (2), или его соль, или его сольват.

[65] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является гидрат соединения 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором MEK является траметиниб или его соль, или его сольват.

[66] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом

является соединением 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором EGFR является цетуксимаб.

5 [67] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является соединением 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором VEGF являются антитела к VEGF.

10 [68] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие параграфу [67], где антителами к VEGF является бевацизумаб.

15 [69] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является соединением 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором SHP2 является RMC4550 или его соль, или его сольват.

20 [69-1] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является соединением 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором SHP2 является TNO155 или его соль, или его сольват.

25 [70] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является соединением 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором SHP2 является RLY1971 или его соль, или его сольват.

30 [71] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является соединением 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором

пути MAPK/ERK или ингибитором KRAS-G12C является соторасиб или его соль, или его сольват.

5 [71-1] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является соединение 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором KRAS-G12C является MRTX849 или его соль, или его сольват.

10 [72] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является соединение 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором MEK является соединение, описываемое формулой (2), или его соль, или его сольват.

15 [73] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [25], где соединением 1 и или его солью, или его сольватом является соединение 1, и молекулярно-направленным средством, ингибитором пути MAPK/ERK или ингибитором MEK является траметиниб или его соль, или его сольват.

[74] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [73], где раком является солидный рак или рак крови.

25 [75] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [74], где раком является по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: рак легких, рак пищевода, рак желудка, колоректальный рак, рак матки, рак яичников, рак поджелудочной железы, рак мочевого пузыря, рак щитовидной железы, рак кожи, лейкоз, злокачественная лимфома и множественная миелома.

30 [76] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [75], где рак связан с аномалией гена RAS или пути

МАРК/ERK (с аномалией белка, вовлеченного в путь МАРК/ERK, или гена, продуцирующего белок).

5 [77] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [76], где аномалией пути МАРК/ERK является аномальная активация пути МАРК/ERK.

10 [78] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [77], где аномалией пути МАРК/ERK является аномальная активация вследствие амплификации белка, вовлеченного в путь МАРК/ERK.

[79] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [78], где аномалией пути МАРК/ERK является аномальная активация вследствие мутации гена, вовлеченного в путь МАРК/ERK.

15 [80] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [79], где раком является рак, связанный с аномалией гена RAS.

20 [81] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие параграфу [80], где аномалией гена RAS является мутация в кодирующем регионе гена RAS и/или увеличение количества копий гена RAS.

25 [82] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [76] - [81], где геном RAS является по меньшей мере один ген RAS, выбранный из группы состоящей из следующих: ген KRAS, ген NRAS и ген HRAS.

30 [83] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [76] - [82], где геном RAS является ген KRAS.

[84] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому

из параграфов [1] - [83], где рак связан с образованием мутировавшего белка RAS и/или образованием увеличенного количества белка RAS.

5 [85] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [1] - [84], где рак связан с образованием мутировавшего белка RAS.

10 [86] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие параграфу [84] или [85], где мутантным белком RAS является один или большее количество мутантных белков RAS, выбранных из группы состоящей из следующих: мутантный белок KRAS, мутантный белок NRAS и мутантный белок HRAS.

15 [87] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [84] - [86], где мутантный белок RAS содержит мутацию по меньшей мере в одном положении аминокислотной последовательности, выбранном из группы, состоящей из следующих: G12, G13 и Q61.

20 [88] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [84] - [87], где мутантный белок RAS содержит мутацию по меньшей мере в одном положении аминокислотной последовательности, выбранном из группы, состоящей из следующих: G12, G13 и Q61 (но не содержит мутацию G12D).

25 [89] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [84] - [88], где мутантным белком RAS является мутантный белок KRAS.

30 [90] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [84] - [89], где мутантным белком RAS является мутантный белок KRAS и он содержит мутацию по меньшей мере одной аминокислоты, выбранную из группы, состоящей из следующих: G12A, G12C, G12D, G12S, G12V, G13D, Q61H и Q61K.

[91] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [84] - [90], где мутантным белком RAS является мутантный белок KRAS и он содержит мутацию по меньшей мере одной аминокислоты, выбранную из группы, состоящей из следующих: G12A, G12C, G12S, G12V, G13D, Q61H и Q61K.

[92] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [84] - [88], где мутантным белком RAS является мутантный белок NRAS и он содержит мутацию по меньшей мере одной аминокислоты, выбранную из группы, состоящей из следующих: G12C, G12D, G13D, G13V, Q61K и Q61L.

[93] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [84] - [88] и [92], где мутантным белком RAS является мутантный белок NRAS и он содержит мутацию по меньшей мере одной аминокислоты, выбранную из группы, состоящей из следующих: G12C, G13D, G13V, Q61K и Q61L.

[94] Лекарственное средство, способ, первый активный ингредиент, предназначенный для применения, или применение, соответствующие любому из параграфов [84] - [88], где мутантным белком RAS является мутантный белок HRAS и он содержит мутацию аминокислоты G13R.

Преимущества настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к лекарственному средству, которое обладает улучшенным воздействием при лечении или предупреждении рака по сравнению с воздействием средств предшествующего уровня техники.

Краткое описание чертежей

[Фиг. 1]. На фиг. 1 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 1 результаты исследования ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и соторасиба, проводимого с использованием клеток NCI-H358. Точнее, на фиг. 1 представлены полученные с помощью электрофореза изображения, иллюстрирующие результаты проводимого по методике вестерн-

блоттинга исследования белков (KRAS, NRAS, HRAS, KRAS-ГТФ (ГТФ = гуанозинтрифосфат), NRAS-ГТФ, HRAS-ГТФ, ERK, АКТ, MEK, pERK, pАКТ и pMEK), извлеченных из клеток NCI-H358.

[Фиг. 2]. На фиг. 2 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 1 результаты исследования ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и соторасиба, проводимого с использованием клеток NCI-H1373. Точнее, на фиг. 2 представлены полученные с помощью электрофореза изображения, иллюстрирующие результаты проводимого по методике вестерн-блоттинга исследования белков (KRAS, NRAS, HRAS, KRAS-ГТФ, NRAS-ГТФ, HRAS-ГТФ, ERK, АКТ, MEK, pERK, pАКТ и pMEK), извлеченных из клеток NCI-H1373.

[Фиг. 3]. На фиг. 3 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 1 результаты исследования ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и RMC-4550 (RMC), проводимого с использованием клеток NCI-H441. Точнее, на фиг. 3 представлены полученные с помощью электрофореза изображения, иллюстрирующие результаты проводимого по методике вестерн-блоттинга исследования белков (KRAS, NRAS, HRAS, KRAS-ГТФ, NRAS-ГТФ, HRAS-ГТФ, ERK, АКТ, MEK, pERK, pАКТ и pMEK), извлеченных из клеток NCI-H441.

[Фиг. 4]. На фиг. 4 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 1 результаты исследования ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и траметиниба, проводимого с использованием клеток NCI-H441. Точнее, на фиг. 4 представлены полученные с помощью электрофореза изображения, иллюстрирующие результаты проводимого по методике вестерн-блоттинга исследования белков (KRAS, NRAS, HRAS, KRAS-ГТФ, NRAS-ГТФ, HRAS-ГТФ, ERK, АКТ, MEK, pERK, pАКТ и pMEK), извлеченных из клеток NCI-H441.

[Фиг. 5]. На фиг. 5 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 1 результаты исследования ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS, обусловленной комбинированным применением

соединения 1 и соединения 2, проводимого с использованием клеток NCI-H358. Точнее, на фиг. 5 представлены полученные с помощью электрофореза изображения, иллюстрирующие результаты проводимого по методике вестерн-блоттинга исследования белков (KRAS, KRAS-ГТФ, ERK, АКТ, MEK, pERK, pАКТ и pMEK), извлеченных из клеток NCI-H358.

[Фиг. 6]. На фиг. 6 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 1 результаты исследования ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и соединения 2, проводимого с использованием клеток NCI-H441. Точнее, на фиг. 6 представлены полученные с помощью электрофореза изображения, иллюстрирующие результаты проводимого по методике вестерн-блоттинга исследования белков (KRAS, KRAS-ГТФ, ERK, АКТ, MEK, pERK, pАКТ и pMEK), извлеченных из клеток NCI-H441.

[Фиг. 7]. На фиг. 7 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 2 результаты исследования ингибирующей активности по отношению к росту клеток, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и RMC-4550, проводимого с использованием клеток NCI-H358. На фиг. 7а по оси абсцисс указана концентрация RMC-4550 и по оси ординат указана концентрация соединения 1. На фиг. 7а показано, что при каждой концентрации обеспечено подавление роста (ПР, степень подавления роста (%)) всех клеток. На фиг. 7б по оси абсцисс указано значение, полученное путем деления концентрации RMC-4550 на концентрацию RMC-4550 при его применении в качестве единственного лекарственного средства (0,55 мкМ), обеспечивающую ПР = 155, и по оси ординат указано значение, полученное путем деления концентрации соединения 1 на концентрацию соединения 1 при его применении в качестве единственного лекарственного средства (0,033 мкМ), обеспечивающую ПР = 155. Определены концентрации RMC-4550 и соединения 1 при их применении в комбинации, которые обеспечивают ПР = 155, и значения нанесены на график, представленный на фиг. 7б.

[Фиг. 8]. На фиг. 8 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 2 результаты исследования ингибирующей активности по отношению к росту клеток, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и RMC-4550, проводимого с использованием клеток NCI-H441. На фиг. 8а по оси

абсцисс указана концентрация RMC-4550 и по оси ординат указана концентрация соединения 1. На фиг. 8а показано, что при каждой концентрации обеспечено ПР (%) всех клеток. На фиг. 8б по оси абсцисс указано значение, полученное путем деления концентрации RMC-4550 на концентрацию RMC-4550 при его применении в качестве единственного лекарственного средства (0,35 мкМ), обеспечивающую ПР = 100, и по оси ординат указано значение, полученное путем деления концентрации соединения 1 на концентрацию соединения 1 при его применении в качестве единственного лекарственного средства (0,0055 мкМ), обеспечивающую ПР = 100. Определены концентрации RMC-4550 и соединения 1 при их применении в комбинации, которые обеспечивают ПР = 100, и значения нанесены на график, представленный на фиг. 8б.

[Фиг. 9]. На фиг. 9 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 2 результаты исследования ингибирующей активности по отношению к росту клеток, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и траметиниба, проводимого с использованием клеток NCI-H358. На фиг. 9а по оси абсцисс указана концентрация траметиниба и по оси ординат указана концентрация соединения 1. На фиг. 9а показано, что при каждой концентрации обеспечено ПР (%) всех клеток. На фиг. 9б по оси абсцисс указано значение, полученное путем деления концентрации траметиниба на концентрацию траметиниба при его применении в качестве единственного лекарственного средства (0,00035 мкМ), обеспечивающую ПР = 50, и по оси ординат указано значение, полученное путем деления концентрации соединения 1 на концентрацию соединения 1 при его применении в качестве единственного лекарственного средства (0,0046 мкМ), обеспечивающую ПР = 50. Определены концентрации траметиниба и соединения 1 при их применении в комбинации, которые обеспечивают ПР = 50, и значения нанесены на график, представленный на фиг. 9б.

[Фиг. 10]. На фиг. 10 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 3 результаты исследования противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и цетуксимаба, проводимого с использованием клеток LoVo. По оси ординат

указан объем опухоли и по оси абсцисс указано количество дней после трансплантации клеток.

[Фиг. 11]. На фиг. 11 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 4 результаты исследования ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS *in vivo*. Точнее, на фиг. 11 представлены полученные с помощью электрофореза изображения, иллюстрирующие результаты проводимого по методике вестерн-блоттинга исследования белков (KRAS, KRAS-ГТФ, ERK, АКТ, EGFR, pERK, pАКТ и pEGFR), извлеченных из опухолевых клеток в примере 4.

10 [Фиг. 12]. На фиг. 12 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 5 результаты исследования противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и бевацизумаба, проводимого с использованием клеток AsPC-1 (рак поджелудочной железы: вариант KRAS G12D). По оси ординат указан объем опухоли и по оси абсцисс указано количество дней после трансплантации клеток.

[Фиг. 13]. На фиг. 13 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 6 результаты исследования ингибирующей активности по отношению к росту клеток, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и соторасиба, проводимого с использованием клеток SW837.

20 [Фиг. 14]. На фиг. 14 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 7 результаты исследования ингибирующей активности по отношению к росту клеток, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и MRTX849, проводимого с использованием клеток HCC-1171 и NCI-H1373.

[Фиг. 15]. На фиг. 15 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 7 результаты исследования ингибирующей активности по отношению к росту клеток, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и TNO155, проводимого с использованием клеток HCC-1171, NCI-H23, NCI-H1373 и UM-UC-3 в.

30 [Фиг. 16]. На фиг. 16 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 8 результаты исследования противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения

1 и соторасиба, проводимого с использованием клеток CTG-2579 (рак легких: вариант KRAS-G12C). По оси ординат указан объем опухоли и по оси абсцисс указано количество дней после начала введения, день начала введения обозначен, как день 0.

5 [Фиг. 17]. На фиг. 17 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 9 результаты исследования ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS *in vivo*. Точнее, на фиг. 17 представлены полученные с помощью электрофореза изображения, иллюстрирующие результаты проводимого по методике вестерн-блоттинга исследования белков
10 (KRAS, KRAS-ГТФ, ERK, pERK, АКТ и pАКТ), извлеченных из опухолевых клеток в примере 9.

[Фиг. 18]. На фиг. 18 представлена диаграмма, иллюстрирующая полученные в примере 10 результаты исследования противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения
15 1 и MRTX849, проводимого с использованием клеток LU65 (рак легких: вариант KRAS-G12C) и клеток UM-UC-3 (рак мочевого пузыря: вариант KRAS-G12C). По оси ординат указан объем опухоли и по оси абсцисс указано количество дней после трансплантации клеток.

[Фиг. 19]. На фиг. 19 представлена диаграмма, иллюстрирующая
20 полученные в примере 11 результаты исследования противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и TNO155, проводимого с использованием клеток NCI-H1373 (рак легких: вариант KRAS-G12C). По оси ординат указан объем опухоли и по оси абсцисс
25 указано количество дней после начала введения, день начала введения обозначен, как день 0.

[Фиг. 20]. На фиг. 20 представлена диаграмма, иллюстрирующая
полученные в примере 12 результаты исследования противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения
1 и соединения 2, проводимого с использованием клеток NCI-H441 (рак легких:
30 вариант KRAS G12V). По оси ординат указан объем опухоли и по оси абсцисс
указано количество дней после трансплантации клеток.

[Фиг. 21]. На фиг. 21 представлена диаграмма, иллюстрирующая
полученные в примере 12 результаты исследования противоопухолевой

активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и соединения 2, проводимого с использованием клеток NCI-H1373 (рак легких: вариант KRAS-G12C). По оси ординат указан объем опухоли и по оси абсцисс
указано количество дней после начала введения, день начала введения
5 обозначен, как день 0.

[Фиг. 22]. На фиг. 22 представлена диаграмма, иллюстрирующая
полученные в примере 13 результаты исследования ингибирующей активности
по отношению к передаче сигнала RAS *in vivo*. Точнее, на фиг. 22 представлены
полученные с помощью электрофореза изображения, иллюстрирующие
10 результаты проводимого по методике вестерн-блоттинга исследования белков
(KRAS, KRAS-ГТФ, ERK, pERK, AKT, pAKT, MEK и pMEK), извлеченных из
опухолевых клеток в примере 13.

Описание вариантов осуществления

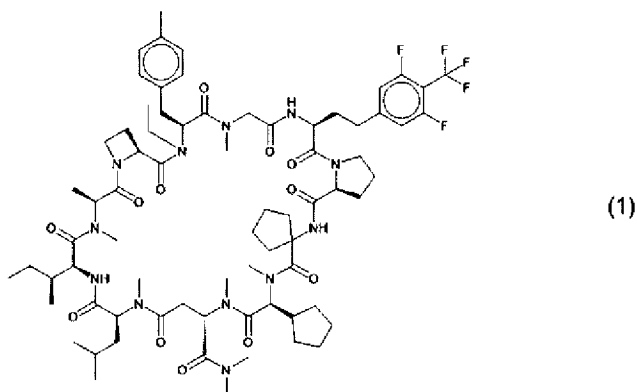
Ниже описаны варианты осуществления настоящего изобретения. Следует
15 отметить, что настоящее изобретение не ограничивается приведенными ниже
вариантами осуществления. Лекарственное средство, предназначенное для
лечения или предупреждения, и способ лечения или предупреждения,
предлагаемые в настоящем изобретении, можно вводить людям или применять
для людей. При использовании в настоящем изобретении термин "от до",
20 указывающий на диапазон значений, означает, что включены начальное и
конечное значения диапазона, и, например, "от А до В" означает диапазон
значений от больших или равных А до меньших или равных В. При
использовании в настоящем изобретении термин "примерно" при использовании
в комбинации с численным значением, означает значение, соответствующее
25 численному значению +10% и -10%. При использовании в настоящем
изобретении значение термина "и/или" включает любую комбинацию "и" и
"или", которая является подходящей. Точнее, например, "А, В и/или С" включает
следующие семь возможностей: (i) А, (ii) В, (iii) С, (iv) А и В, (v) А и С, (vi) В и
С, и (vii) А, В и С.

30 Одним вариантом осуществления настоящего изобретения является
лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения
рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его
применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым

активным ингредиентом является соединение, описываемое приведенной ниже формулой (1) (ниже в настоящем изобретении также называемое "соединением 1"), или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является молекулярно-направленное средство.

5

[Формула 4]



Другим вариантом осуществления настоящего изобретения является лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является молекулярно-направленное средство, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

При применении соединения 1 или его соли, или его сольвата в комбинации с молекулярно-направленным средством соединение 1, предлагаемое в настоящем изобретении, или его соль, или его сольват можно применять в качестве первого активного ингредиента или второго активного ингредиента, и молекулярно-направленное средство, предлагаемое в настоящем изобретении, можно применять в качестве первого активного ингредиента или второго активного ингредиента. Предпочтительно, если молекулярно-направленным средством является ингибитор пути MAPK/ERK. Более предпочтительно, если молекулярно-направленным средством является одно, выбранное из группы, состоящей из следующих: ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, ингибитор SHP2, ингибитор KRAS-G12C и ингибитор MEK.

Одним вариантом осуществления настоящего изобретения является лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его

применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является ингибитор пути MAPK/ERK.

5 Другим вариантом осуществления настоящего изобретения является лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является ингибитор пути MAPK/ERK, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

10 При применении соединения 1 или его соли, или его сольвата в комбинации с ингибитором пути MAPK/ERK соединение 1, соответствующее этому варианту осуществления, или его соль, или его сольват можно применять в качестве первого активного ингредиента или второго активного ингредиента, и ингибитор пути MAPK/ERK, соответствующий этому варианту осуществления, можно
15 применять в качестве первого активного ингредиента или второго активного ингредиента.

Одним вариантом осуществления настоящего изобретения является лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его
20 применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является ингибитор EGFR.

25 Другим вариантом осуществления настоящего изобретения является лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является ингибитор EGFR, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

30 При применении соединения 1 или его соли, или его сольвата в комбинации с ингибитором EGFR соединение 1, соответствующее этому варианту осуществления, или его соль, или его сольват можно применять в качестве первого активного ингредиента или второго активного ингредиента, и ингибитор EGFR, соответствующий этому варианту осуществления, можно применять в

качестве первого активного ингредиента или второго активного ингредиента. Ингибитором EGFR может являться по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: гефитиниб, эрлотиниб, афатиниб, осимертиниб, лапатиниб или их соли, или их сольваты, и антитела к EGFR, и им
5 могут являться антитела к EGFR. Предпочтительно, если ингибитором EGFR могут являться антитела к EGFR. Антитела к EGFR могут содержать переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, и ими может
10 являться цетуксимаб. Более предпочтительно, если ингибитором EGFR может являться цетуксимаб.

Одним вариантом осуществления настоящего изобретения является лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его
15 применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является ингибитор VEGF.

Другим вариантом осуществления настоящего изобретения является лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения
20 рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является ингибитор VEGF, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

При применении соединения 1 или его соли, или его сольвата в комбинации
25 с ингибитором VEGF соединение 1, соответствующее этому варианту осуществления, или его соль, или его сольват можно применять в качестве первого активного ингредиента или второго активного ингредиента, и ингибитор VEGF, соответствующий этому варианту осуществления, можно применять в качестве первого активного ингредиента или второго активного ингредиента.
30 Ингибитором VEGF может являться по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: сорафениб, пазопаниб, сунитиниб, акситиниб, регорафениб или их соли, или их сольваты, и антитела к VEGF, и им могут являться антитела к VEGF, которые могут содержать переменную область

тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, и вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, и ими может являться бевацизумаб, рамуцирумаб или афлиберцепт. Предпочтительно, если ингибитором VEGF являются антитела к VEGF и более предпочтительно, если им является бевацизумаб.

Одним вариантом осуществления настоящего изобретения является лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является ингибитор SHP2.

Другим вариантом осуществления настоящего изобретения является лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является ингибитор SHP2, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

При применении соединения 1 или его соли, или его сольвата в комбинации с ингибитором SHP2 соединение 1, соответствующее этому варианту осуществления, или его соль, или его сольват можно применять в качестве первого активного ингредиента или второго активного ингредиента, и ингибитор SHP2, соответствующий этому варианту осуществления, можно применять в качестве первого активного ингредиента или второго активного ингредиента. Ингибитором SHP2 может являться по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: RMC4550, TNO155, RLY1971, SHP099, NSC-87877 и их соли, и их сольваты, и предпочтительные примеры ингибитора SHP2 включают RMC4550, RLY1971, TNO155, их соли и их сольваты. Более предпочтительно, если ингибитором SHP2 является RMC4550, TNO155 или их соли, или их сольваты.

Одним вариантом осуществления настоящего изобретения является лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его

применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является ингибитор KRAS-G12C.

5 Другим вариантом осуществления настоящего изобретения является лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является ингибитор KRAS-G12C, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

10 При применении соединения 1 или его соли, или его сольвата в комбинации с ингибитором KRAS-G12C соединение 1, соответствующее этому варианту осуществления, или его соль, или его сольват можно применять в качестве первого активного ингредиента или второго активного ингредиента, и ингибитор KRAS-G12C, соответствующий этому варианту осуществления, можно
15 применять в качестве первого активного ингредиента или второго активного ингредиента. Ингибитором KRAS-G12C является по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: соторасиб, MRTX849 и их соли, и их сольваты, и предпочтительно, если им является соторасиб, MRTX849 или их соли, или их сольваты.

20 Одним вариантом осуществления настоящего изобретения является лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват, и
25 вторым активным ингредиентом является ингибитор MEK.

Другим вариантом осуществления настоящего изобретения является лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где первым
30 активным ингредиентом является ингибитор MEK, и вторым активным ингредиентом является соединение 1 или его соль, или его сольват.

При применении соединения 1 или его соли, или его сольвата в комбинации с ингибитором MEK соединение 1, соответствующее этому варианту

осуществления, или его соль, или его сольват можно применять в качестве первого активного ингредиента или второго активного ингредиента, и ингибитор МЕК, соответствующий этому варианту осуществления, можно применять в качестве первого активного ингредиента или второго активного ингредиента.

- 5 Примеры ингибитора МЕК включают по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: соединение, описываемое приведенной ниже формулой (2), траметиниб, селуметиниб, СН4987655 и их соли, и их сольваты, и предпочтительные примеры включают соединение, описываемое формулой (2), траметиниб или их соли, или их сольваты. Более
- 10 предпочтительно, если примеры ингибитора МЕК включают соединение, описываемое формулой (2), его соль и его сольват.

Первый активный ингредиент и второй активный ингредиент могут быть предоставлены в виде набора. Другим вариантом осуществления настоящего изобретения может являться набор, включающий первый активный ингредиент и

15 второй активный ингредиент. Лекарственное средство, предлагаемое в настоящем изобретении, может быть предоставлено в виде набора. Другим вариантом осуществления настоящего изобретения может являться набор, включающий лекарственное средство.

Термин "применение в комбинации" или "комбинированное применение"

20 означает применение активных ингредиентов в комбинации. Так, например, комбинированное применение первого активного ингредиента и второго активного ингредиента включает "случай, когда первый активный ингредиент и второй активный ингредиент вводят в виде одного препарата, содержащего

25 первый активный ингредиент и второй активный ингредиент" (т. е. случай, когда первый активный ингредиент и второй активный ингредиент применяют в комбинации в виде комбинированного лекарственного средства (комплексного лекарственного средства)) и "случай, когда первый активный ингредиент и второй активный ингредиент вводят одновременно или отдельно в виде

30 отдельных препаратов". В последнем случае сначала можно вводить препарат, содержащий первый активный ингредиент, или сначала можно вводить препарат, содержащий второй активный ингредиент. Последний случай может представлять собой любые следующие: "случай, когда первый активный ингредиент и второй активный ингредиент готовят по отдельности и вводят

одновременно с использованием одного и того же пути введения", "случай, когда первый активный ингредиент и второй активный ингредиент готовят по отдельности и вводят отдельно в разные моменты времени с использованием одного и того же пути введения", "случай, когда первый активный ингредиент и второй активный ингредиент готовят по отдельности и вводят одновременно с использованием разных путей введения (вводят в разные участки организма одного и того же пациента)", и "случай, когда первый активный ингредиент и второй активный ингредиент готовят по отдельности и вводят отдельно в разные моменты времени с использованием разных путей введения". При использовании "случая, когда первый активный ингредиент и второй активный ингредиент готовят по отдельности и вводят одновременно с использованием одного и того же пути введения" оба средства (средство, содержащее первый активный ингредиент, и средство, содержащее второй активный ингредиент) можно смешать непосредственно перед введением. Термин "раздельно" означает, что один препарат вводят до или после введения второго препарата.

Другими словами, термин "применение в комбинации" или "комбинированное применение" также может означать случай применения, когда один активный ингредиент содержится в организме пациента вместе с другим активным ингредиентом, содержащимся в организме пациента. Это означает, что предпочтительным является случай, когда первый активный ингредиент и второй активный ингредиент вводят таким образом, что они одновременно содержатся в организме пациента, например, в крови, и предпочтительным является случай, когда пациенту одновременно вводят определенные средства, содержащие первый активный ингредиент и второй активный ингредиент соответственно, или когда вводят определенное средство, содержащее первый активный ингредиент или второй активный ингредиент, и затем в течение 48 ч вводят другое средство, содержащее другой активный ингредиент.

Соединением 1 или его солью, или его сольватом может являться соединение 1, сольват соединения 1 или гидрат соединения 1.

Примеры соли соединения 1 включают фармацевтически приемлемые соли и их конкретные примеры включают: соли, образованные с неорганическими кислотами, такими как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота и фосфорная кислота соли,

образованные с органическими кислотами, такими как уксусная кислота, янтарная кислота, фумаровая кислота, малеиновая кислота, винная кислота, лимонная кислота, молочная кислота, стеариновая кислота, бензойная кислота, метансульфоновая кислота, этансульфоновая кислота и п-толуолсульфоновая кислота; соли, образованные с щелочными металлами, такими как натрий и калий; соли, образованные с щелочноземельными металлами, такими как кальций и магний; аммониевые соли; и соли, образованные с аминокислотами, такими как аргинин. Эти соли получают, например, путем введения соединения во взаимодействие с кислотой или основанием. В настоящем изобретении на сольват не налагаются особые ограничения при условии, что молекула соединения и молекулы растворителя вместе образуют одну молекулярную группу, однако он представляет собой сольват, образованный с растворителем, который является приемлемым для приема (проглатывания) при введении лекарственного средства. Примеры сольвата включают гидраты, сольваты гидрата со спиртом (такие как сольваты гидрата с этанолом, сольваты гидрата с метанолом, сольваты гидрата с 1-пропанолом и сольваты гидрата с 2-пропанолом), и не только сольваты, образованные с одним растворителем, таким как диметилсульфоксид, но и сольваты, образованные одной молекулой соединения с несколькими растворителями, или сольваты образованные одной молекулой соединения с растворителями нескольких типов. Если растворителем является вода, то сольваты называются гидратами. Сольват получают, например, путем введения соединения во взаимодействие с растворителем, и сольват соли получают, например, путем введения соли соединения во взаимодействие с растворителем. Соль соединения или сольват соединения или соли соединения все являются активными веществами таким же образом, как соединение (находящееся в свободной форме). При использовании в настоящем изобретении термин "(его) сольват" включает сольват соединения 1, сольват молекулярно-направленного средства, сольват соли соединения 1 и сольват соли молекулярно-направленного средства.

Соединение 1 или его соль, или его сольват может включать кристаллические полиморфные формы и кристаллическая полиморфная форма может представлять собой одно вещество или смесь любых кристаллических

форм. Соединение 1 или его соль, или его сольват также включает аморфное вещество.

Доза соединения 1 или его соли, или его сольвата предпочтительно составляет от 0,001 до 100 мг/1 введение/кг массы тела субъекта, которому
5 проводят введение (от 0,001 до 100 мг/кг/сутки), более предпочтительно от 0,003 до 20 мг/кг/сутки, еще более предпочтительно от 0,003 до 10 мг/кг/сутки. Если доза соединения 1 находится в указанном выше диапазоне, то результат лечения или предупреждения рака дополнительно улучшается. Частота введения соединения 1 может составлять, например, один раз в сутки, два раза в сутки,
10 три раза в сутки, однако более предпочтительным является введение один раз в сутки. Такие же дозы и/или частоту введения можно использовать в случае молекулярно-направленного средства.

Соединение 1 можно получить, например, по методике, описанной в
Международной публикации № WO 2021/090855, по методике синтеза пептидов
15 с использованием группы Fmoc или по методике твердофазного синтеза пептидов (опубликована Bachem, [поиск проводили 24 декабря 2021 г.], URL-адрес в интернете: https://www.bachem.com/wp-admin/admin-ajax.php?juwpfisadmin=false&action=wpfd&task=file.download&wpfd_category_id=180&wpfd_file_id=213455&token=&preview=1, или Peptide Guide, No: 2004505,
20 опубликована Global Marketing Bachem AG, 2020.).

При использовании в настоящем изобретении термин "молекулярно-направленное средство" означает средство, которое обладает противоопухолевым воздействием и которое специфично ингибирует конкретный белок. В настоящем описании соединение 1 или его соль, или его
25 сольват не входит в число молекулярно-направленных средств. Примеры молекулярно-направленного средства включают ингибитор пути MAPK/ERK, который можно использовать, как лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака. В настоящем описании термин "ингибитор пути MAPK/ERK" означает ингибитор мишени, которая вовлечена в передачу
30 сигнала MAPK/ERK, и включает ингибиторы факторов роста и их рецепторы, а также ингибиторы киназы. Примеры ингибитора пути MAPK/ERK включают ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, ингибитор SHP2, ингибитор KRAS, ингибитор NRAS, ингибитор HRAS, ингибитор KRAS-ГТФ, ингибитор NRAS-

ГТФ, ингибитор HRAS-ГТФ, ингибитор KRAS-G12C, ингибитор ERK, ингибитор АКТ и ингибитор MEK. Молекулярно-направленным средством может являться по меньшей мере одно, выбранное из группы, состоящей из следующих:

5 ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, ингибитор SHP2, ингибитор KRAS-G12C и ингибитор MEK, и им может являться ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, ингибитор SHP2, ингибитор KRAS-G12C или ингибитор MEK. Предпочтительно, если молекулярно-направленным средством является ингибитор EGFR.

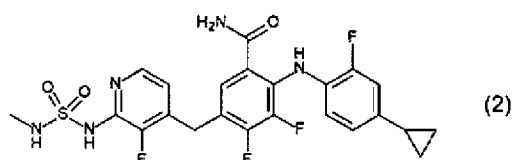
10 Ингибитором EGFR может являться по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: gefitinib, erlotinib, afatinib, osimertinib, lapatinib или их соли, или их сольваты, и антитела к EGFR, и им могут являться антитела к EGFR. Предпочтительно, ингибитор EGFR являются антитела к EGFR. Предпочтительно, если ингибитором EGFR могут являться антитела к EGFR. Антитела к EGFR могут содержать переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, и ими может являться cetuximab. Более предпочтительно, если ингибитором EGFR может являться cetuximab.

15 Ингибитором VEGF может являться по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: sorafenib, pazopanib, sunitinib, axitinib, regorafenib или их соли, или их сольваты, и антитела к VEGF, и им могут являться антитела к VEGF, которые могут содержать переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, и ими может являться bevacizumab,

20 рамуцирумаб или aflibercept. Предпочтительно, если ингибитором VEGF являются антитела к VEGF и более предпочтительно, если им является bevacizumab. Ингибитором SHP2 может являться по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: RMC4550, TNO155, RLY1971, SHP099, NSC-87877 и их соли, и их сольваты, и им может являться RMC4550, 25 TNO155 и их соли, и их сольваты. Более предпочтительно, если примеры ингибитора SHP2 включают один, выбранный из группы, состоящей из следующих: RMC4550, TNO155, RLY1971, их соли и их сольваты. Более предпочтительно, если примеры ингибитора SHP2 включают RMC4550, TNO155,

их соли и их сольваты. Ингибитором KRAS-G12C может являться по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: соторасиб, MRTX849 и их соли, и их сольваты, и предпочтительно, если им может являться соторасиб или его соль, или его сольват, или MRTX849 или его соль, или его сольват. Ингибитором MEK может являться по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: соединение, описываемое приведенной ниже формулой (2), траметиниб, селуметиниб, CN4987655 и их соли, и их сольваты, и предпочтительно, если им может являться соединение, описываемое приведенной ниже формулой (2), траметиниб или их соли, или их сольваты. Более предпочтительно, если примеры ингибитора MEK включают соединение, описываемое приведенной ниже формулой (2), его соль и его сольват.

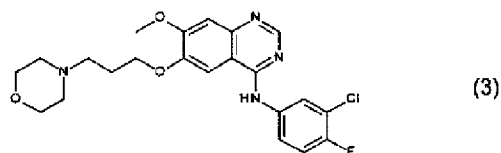
[Формула 5]



Молекулярно-направленное средство можно приобрести у коммерческих поставщиков или получить по известным методикам.

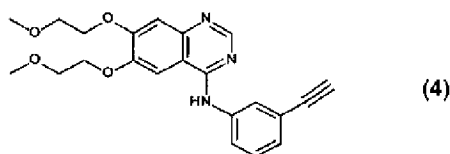
Гефитиниб (регистрационный № CAS: 184475-35-2, N-(3-хлор-4-фторфенил)-7-метокси-6-(3-морфолин-4-илпропокси)хиназолин-4-амин) представляет собой соединение, описываемое приведенной ниже формулой (3). Гефитиниб используют в виде препарата иресса.

[Формула 6]



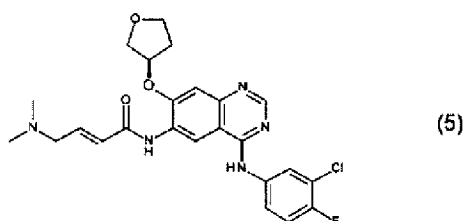
Эрлотиниб (регистрационный № CAS: 183321-74-6, N-(3-этинилфенил)-6,7-бис(2-метоксиэтокси)хиназолин-4-амин) представляет собой соединение, описываемое приведенной ниже формулой (4). Эрлотиниб используют в виде эрлотинибгидрохлорида или препарата тарцева.

[Формула 7]



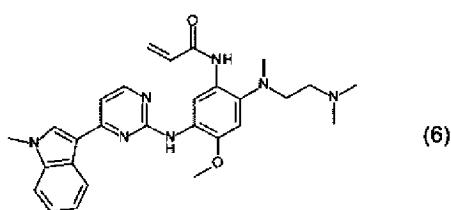
Афатиниб (регистрационный № CAS: 439081-18-2, N-[4-[(3-хлор-4-фторфенил)амино]-7-[[3S)-тетрагидро-3-фуранил]окси]-6-хиназолинил]-4(диметиламино)-2-бутенамид) представляет собой соединение, описываемое приведенной ниже формулой (5). Афатиниб используют в виде афатинибмалеата или препарата гиотриф.

[Формула 8]



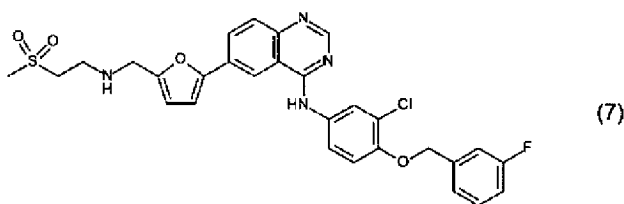
Осимертиниб (регистрационный № CAS: 1421373-65-0, N-(2-{2-диметиламиноэтилметиламино}-4-метокси-5-{[4-(1-метилиндолил)пиримидин-2-ил]амино}фенил)проп-2-енамид) представляет собой соединение, описываемое приведенной ниже формулой (6). Осимертиниб используют в виде осимертинибмезилата или препарата тагриссо.

[Формула 9]



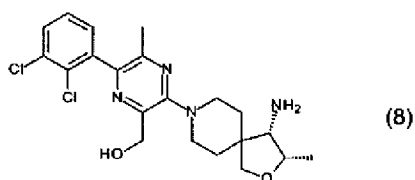
Лапатиниб (регистрационный № CAS: 231277-92-2, N-[3-хлор-4-[(3-фторфенил)метокси]фенил]-6-[5-[(2-метилсульфонилэтиламино)метил]-2-фурил]хиназолин-4-амин) представляет собой соединение, описываемое приведенной ниже формулой (7). Лапатиниб используют в виде гидрата лапатинибтозилата или препарата тайкерб.

[Формула 10]



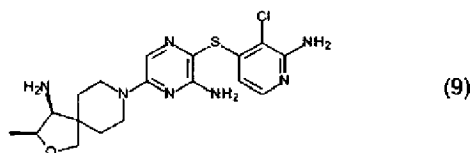
5 RMC-4550 (регистрационный № CAS: 2172651-73-7, 3-[(3S,4S)-4-амино-3-метил-2-окса-8-азаспиро[4.5]дека-8-ил]-6-(2,3-дихлорфенил)-5-метил-2-пиазинметанол) представляет собой соединение, описывающееся приведенной ниже формулой (8).

[Формула 11]



10 TNO155 (регистрационный № CAS: 1801765-04-7, (3S,4S)-8-(6-амино-5-((2-амино-3-хлорпиридин-4-ил)тио)пиазин-2-ил)-3-метил-2-окса-8-азаспиро[4.5]декан-4-амин) представляет собой соединение, описывающееся приведенной ниже формулой (9).

[Формула 12]

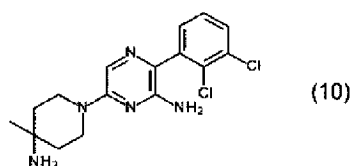


15 RLY1971 представляет собой соединение, описывающееся регистрационным № CAS: 2668298-71-1.

SHP099 (регистрационный № CAS: 1801747-42-1, 6-(4-амино-4-метил-1-пиперидинил)-3-(2,3-дихлорфенил)-2-пиазинамин) представляет собой соединение, описывающееся приведенной ниже формулой (10).

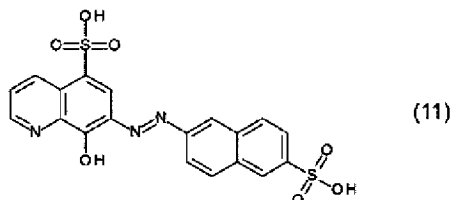
20

[Формула 13]



NSC-87877 (регистрационный № CAS: 56990-57-9, 8-гидрокси-7-[2-(6-сульфо-2-нафталинил)дiazенил]-5-хинолинсульфоная кислота) представляет собой соединение, описываемое приведенной ниже формулой (11).

[Формула 14]

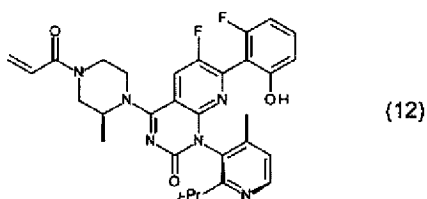


5

Соторасиб (регистрационный № CAS: 2296729-00-3, 4-((S)-4-акрилоил-2-метилпиперазин-1-ил)-6-фтор-7-(2-фтор-6-гидроксифенил)-1-(2-изопропил-4-метилпиримидин-3-ил)пиридо[2,3-d]пиримидин-2(1H)-он) представляет собой соединение, описываемое приведенной ниже формулой (12). Соторасиб используют в виде препарата AMG510 или лумакрас.

10

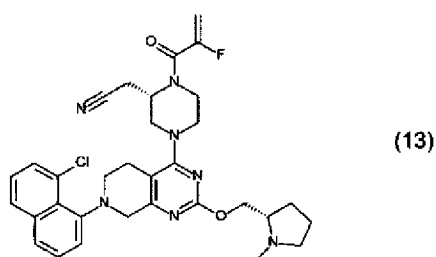
[Формула 15]



MRTX849 (регистрационный № CAS: 2326521-71-3, 2-((S)-4-(7-(8-хлорнафталин-1-ил)-2-(((S)-1-метилпирролидин-2-ил)метокси)-5,6,7,8-тетрагидропиридо[3,4-d]пиримидин-4-ил)-1-(2-фторакилоил)пиперазин-2-ил)ацетонитрил) представляет собой соединение, описываемое приведенной ниже формулой (13). MRTX849 используют в виде препарата адаграсиб.

15

[Формула 16]

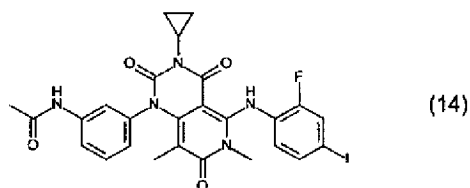


20

Траметиниб (регистрационный № CAS: 871700-17-3, N-[3-[3-циклопропил-5-(2-фтор-4-йодфениламино)-6,8-диметил-2,4,7-триоксо-3,4,6,7-тетрагидро-2H-пиридо[4,3-d]пиримидин-1-ил]фенил]ацетамид) представляет собой соединение,

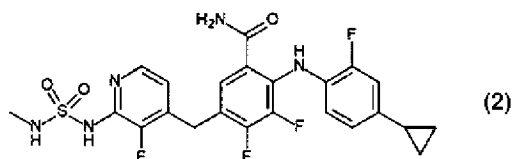
описывающееся приведенной ниже формулой (14). Траметиниб используют в виде траметинибдиметилсульфоксида или препарата мекинист.

[Формула 17]



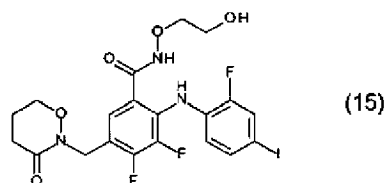
5 Соединение 2 (регистрационный № CAS: 2677856-11-8, 2-(4-циклопропил-2-фторанилино)-3,4-дифтор-5-[[3-фтор-2-(метилсульфамоиламино)-4-пиридил]метил]бензамид, 2-(4-циклопропил-2-фторанилино)-3,4-дифтор-5-[[3-фтор-2-(метилсульфамоиламино)-4-пиридил]метил]бензамид) представляет собой соединение, описывающееся приведенной ниже формулой (2). Соединение
10 2 используют, например, в виде натриевой соли.

[Формула 18]



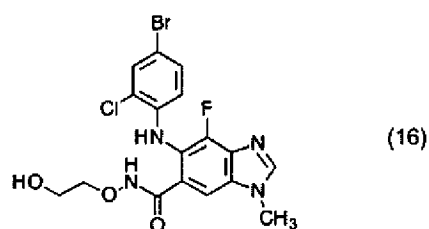
СН4987655 (регистрационный № CAS: 874101-00-5, 3,4-дифтор-2-[(2-фтор-4-йодфенил)амино]-N-(2-гидроксиэтокси)-5-[(тетрагидро-3-оксо-2H-1,2-оксазин-2-ил)метил]бензамид, RO4987655) представляет собой соединение, описывающееся приведенной ниже формулой (15).

[Формула 19]



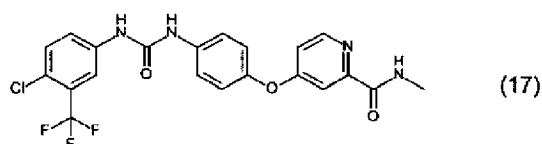
Селуметиниб (регистрационный № CAS: 606143-52-6, 6-(4-бром-2-хлоранилино)-7-фтор-N-(2-гидроксиэтокси)-3-метилбензимидазол-5-карбоксамид) представляет собой соединение, описывающееся приведенной ниже формулой (16). Селуметиниб используют в виде селуметинибсульфата или препарата коселуго.

[Формула 20]



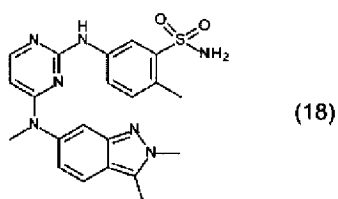
Сорафениб (регистрационный № CAS: 284461-73-0, 4-[4-[[4-хлор-3-(трифторметил)фенил]карбамоиламино]фенокси]-N-метилпиридин-2-карбоксамид) представляет собой соединение, описываемое приведенной ниже формулой (17). Сорафениб используют в виде сорафенибтозилата или препарата неваксар.

[Формула 21]



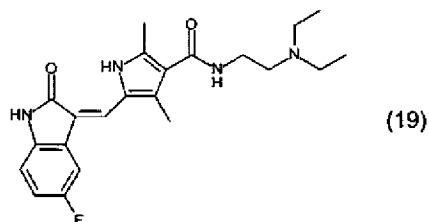
Пазопаниб (регистрационный № CAS: 444731-52-6, 5-[[4-[(2,3-диметилиндазол-6-ил)-метиламино]пиримидин-2-ил]амино]-2-метилбензолсульфонамид) представляет собой соединение, описываемое приведенной ниже формулой (18). Пазопаниб используют в виде пазопанибгидрохлорида или препарата вотриент.

[Формула 22]



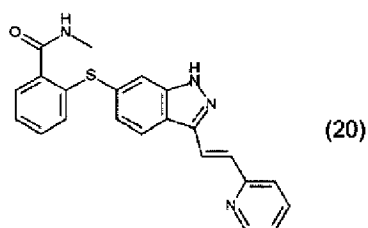
Сунитиниб (регистрационный № CAS: 557795-19-4, N-[2-(диэтиламино)этил]-5-[(Z)-(5-фтор-2-оксо-индолин-3-илиден)метил]-2,4-диметил-1H-пиррол-3-карбоксамид) представляет собой соединение, описываемое приведенной ниже формулой (19). Сунитиниб используют в виде сунитинибмалата или препарата сутент.

[Формула 23]



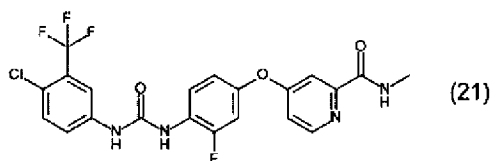
Акситиниб (регистрационный № CAS: 319460-85-0, N-метил-2-[[3-[(E)-2-(2-
5 пиридил)винил]-1H-индазол-6-ил]сульфанил]бензамид) представляет собой
соединение, описываемое приведенной ниже формулой (20). Акситиниб
используют в виде препарата инлита.

[Формула 24]



Регорафениб (регистрационный № CAS: 755037-03-7, 4-[4-[[4-хлор-3-
10 (трифторметил)фенил]карбамоиламино]-3-фторфенокси]-N-метилпиридин-2-
карбоксамид) представляет собой соединение, описываемое приведенной
ниже формулой (21). Регорафениб используют в виде регорафенибгидрата или
препарата стиварга.

[Формула 25]



15
20
Доза молекулярно-направленного средства предпочтительно составляет от
0,005 до 100 мг/сутки/кг массы тела субъекта, которому проводят введение (от
0,005 до 100 мг/кг/сутки), более предпочтительно от 0,01 до 75 мг/кг/сутки, еще
более предпочтительно от 0,02 до 50 мг/кг/сутки, наиболее предпочтительно от 5
до 40 мг/кг/сутки. Если доза молекулярно-направленного средства находится в
указанном выше диапазоне, то результат лечения или предупреждения рака
дополнительно улучшается. Частота введения молекулярно-направленного
средства может составлять, например, один или большее количество раз в

неделю, и может составлять два раза в неделю. Такие же дозы и/или частоту введения можно использовать в случае соединения 1 или его солей, или его сольватов.

5 Дозы соединения 1 или его солей, или его сольватов и молекулярно-направленного средства предпочтительно составляют от 0,001 до 100 мг/кг/сутки в случае соединения 1 или его солей, или его сольватов, и от 0,005 до 100 мг/кг/сутки в случае молекулярно-направленного средства, более предпочтительно от 0,003 до 20 мг/кг/сутки в случае соединения 1 или его солей, или его сольватов, и от 0,01 до 75 мг/кг/сутки в случае молекулярно-направленного средства, еще более предпочтительно от 0,003 до 10 мг/кг/сутки в случае соединения 1 или его солей, или его сольватов, и от 0,02 до 30 мг/кг/сутки в случае молекулярно-направленного средства соответственно, в пересчете на 1 кг массы тела субъекта, которому проводят введение. Если дозы соединения 1 или его солей, или его сольватов и молекулярно-направленного средства находятся в указанном выше диапазоне, то результат лечения или предупреждения рака дополнительно улучшается. Дозу и режим введения можно регулировать подходящим образом на основании результатов наблюдения за концентрацией лекарственного средства в крови, например, ППК (площадь под кривой) и $C_{\text{макс}}$, и состоянием пациента. Подходящая доза и количество доз (частота введения) также указаны, например, на листке-вкладыше в упаковке молекулярно-направленного средства. Введение соединения 1 или его соли, или его сольвата можно проводить, например, один раз или большее количество раз в сутки, или два раза в сутки. Предпочтительно, если введение соединения 1 и или его соли, или его сольвата проводят один раз в сутки.

25 В настоящем изобретении примеры методики введения включают пероральное, трансректальное, парентеральное (внутривенное, внутримышечное, подкожное, путем впитывания через кожу), интрацистернальное, внутривагинальное, внутрибрюшинное, внутрипузырное или местное (инъекция, капли, порошок, мазь, гель или крем) введение и введение путем ингаляции (в полость рта или с использованием назальных спреев). Примеры дозированных форм включают таблетки, капсулы, гранулы, порошки, пилюли, водные и неводные растворы и суспензии для перорального введения, и растворы для парентерального введения, помещенные в контейнеры, предназначенные для

введения отдельных доз. Дозированная форма также может быть предназначена для разных методик введения, включающих использование препаратов регулируемого высвобождения, например, для подкожной имплантации.

Методика введения в равной степени применима для первого активного ингредиента и второго активного ингредиента. Первый активный ингредиент и второй активный ингредиент можно использовать в качестве средств и их можно вводить в виде препарата или комбинированного лекарственного средства.

Для первого активного ингредиента можно использовать, например, любую из методик введения, описанных выше, и для второго активного ингредиента

можно использовать, например, такую же методику введения, как для первого активного ингредиента, или другую методику. Промежуток времени между введением первого активного ингредиента и введением второго активного ингредиента может составлять, например, от 0 до 14 дней, от 0 до 10 дней или от 0 до 7 дней. Промежуток времени между введениями можно определить на

основании таких показателей, как ППК, $C_{\text{макс.}}$, $T_{\text{макс.}}$, период полувыведения, или на основании состояния здоровья субъекта. Так, например, соединение 1 или его соль, или его сольват можно вводить перорально (таблетки, капсулы и т. п.) и молекулярно-направленное средство можно вводить путем вливания

соответственно. Так, например, и соединение 1 или его соль, или его сольват, и молекулярно-направленное средство можно вводить перорально (таблетки, капсулы и т. п.). Так, например, соединение 1 или его соль, или его сольват можно вводить путем вливания и молекулярно-направленное средство можно вводить перорально (таблетки, капсулы и т. п.). Так, например, и соединение 1

или его соль, или его сольват, и молекулярно-направленное средство можно вводить путем вливания. В этом случае соединение 1 или его соль, или его сольват и молекулярно-направленное средство можно вводить через любые промежутки времени, например, два раза в сутки, один раз в сутки, один раз в неделю или один раз в две недели. Точнее, и соединение 1 или его соль, или его сольват, и молекулярно-направленное средство можно вводить один раз в сутки;

в этом случае их можно вводить до приема пищи, между приемами пищи или после приема пищи. В отношении введения до приема пищи, между приемами пищи или после приема пищи, приемом пищи может являться любой из следующих приемов пищи: завтрак, второй завтрак: обед, ужин или легкая

закуски. Если промежуток времени между введением соединения 1 или его соли, или его сольвата и введением молекулярно-направленного средства находится в пределах 24 ч, то можно считать, что оба средства вводят один раз в сутки. При необходимости соединения 1 или его соль, или его сольват и молекулярно-направленное средство можно вводить два раза в сутки и один раз в сутки, один раз в сутки и один раз в сутки, один раз в сутки и два раза в сутки, один раз в сутки и один раз каждые 2 дня, один раз в сутки и один раз каждые 3 дня, один раз в сутки и один раз каждые 7 дней, и два раза в сутки и один раз каждые 7 дней соответственно. При необходимости промежуток времени между введениями только молекулярно-направленного средства можно увеличить или уменьшить, или промежуток времени между введениями только соединения 1 или его соли, или его сольвата можно увеличить или уменьшить с учетом показателей ППК, $C_{\text{макс.}}$, $T_{\text{макс.}}$ или периода полувыведения соединения 1 и/или молекулярно-направленного средства, или состояния здоровья пациента.

Введение молекулярно-направленного средства можно начать в день начала введения соединения 1 или его соли, или его сольвата, или день начала введения соединения 1 или его соли, или его сольвата может отличаться от дня введения молекулярно-направленного средства. В течение периода введения полное количество курсов лечения может составлять один или большее количество курсов лечения, или два или большее количество курсов лечения, при этом продолжительность одного курса лечения составляет 7 дней. Каждый курс лечения можно проводить непрерывно или может быть включен перерыв. Перерыв может быть включен в курс лечения. При необходимости во время проведения курса лечения можно непрерывно вводить только соединение 1 или его соль, или его сольват при прекращении введения молекулярно-направленного средства, или можно прекратить введение только соединения 1 или его соли, или его сольвата при непрерывном введении молекулярно-направленного средства. Соединение 1 или его соль, или его сольват и молекулярно-направленное средство также можно включить в одну и ту же таблетку, капсулу и т. п.

Фармацевтический препарат, предлагаемый в настоящем изобретении, можно приготовить по известным методикам путем включения фармацевтически приемлемого носителя в дополнение к активным ингредиентам, таким как

соединение 1 или его соль, или его сольват и молекулярно-направленное средство. Фармацевтический препарат, предлагаемый в настоящем изобретении, можно приготовить с обычными инертными наполнителями, связующими, смазывающими веществами, красителями или вкусовые агенты, и, при
5 необходимости, стабилизаторами, эмульгаторами, усилителями всасывания, поверхностно-активными веществами, регуляторами рН, консервантами, антиоксидантами и т. п., и его можно приготовить по обычным методикам путем смешивания ингредиентов, обычно использующихся в качестве исходных
10 веществ для приготовления фармацевтических препаратов. Для приготовления препарата активный ингредиент, использующийся в фармацевтическом средстве, можно обработать по известным методикам с приданием ему формы или вида, оптимальных для способа его применения или цели его применения, т. е.
получить дозированную форму. Обычно использующиеся дозированные формы
15 включают, но не ограничиваются только ими, жидкие фармацевтические препараты (жидкости), такие как инъекции, суспензии, эмульсии и глазные капли, и твердые фармацевтические препараты (твердые препараты), такие как таблетки, порошки, мелкие гранулы, гранулы, таблетки с покрытием, капсулы, сухие препараты для приготовления сиропов, пастилки и суппозитории. Так,
20 например, препараты, содержащие активные ингредиенты, примерами которых являются соединение 1 или его соль, или его сольват и молекулярно-направленное средство, можно применять в качестве лекарственного средства, предлагаемого в настоящем изобретении.

В терапевтическом или профилактическом лекарственном средстве, предлагаемом в настоящем изобретении, любой из двух или оба следующие:
25 первый активный ингредиент и второй активный ингредиент, можно использовать в смеси с фармацевтически приемлемой добавкой. Специалисты в данной области техники могут соответствующим образом выбрать хорошо известные добавки для использования в качестве фармацевтически приемлемой
30 добавки, и при необходимости можно соответствующим образом использовать множество добавок. Добавку выбирают соответствующим образом в зависимости от препарата для перорального введения или инъекции и ей может являться смесь с водой, этанолом, физиологическим раствором, жидким

парафином, поверхностно-активным веществом, сахарозой и т. п.; и полученную смесь можно капсулировать.

Примеры рака включают солидный рак и рак крови, раковые заболевания
обоих типов отличаются наличием аномальных клеток, рост которых является
5 нерегулируемым. Сольдные опухоли представляют собой одну или большее
количество образований, тогда как раковые клетки крови циркулируют в
организме вследствие кровообращения. Раком может являться, например, по
меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: рак
10 легких, рак пищевода, рак желудка, колоректальный рак, рак матки, рак
яичников, рак поджелудочной железы, рак мочевого пузыря, рак щитовидной
железы, рак кожи, лейкоз, злокачественная лимфома и множественная миелома.
Раком может являться рак, связанный с аномалией гена RAS. Предпочтительно,
если раком является рак легких, рак поджелудочной железы или колоректальный
рак.

15 При использовании в настоящем изобретении термин "аномальный"
означает состояние, при котором функция и регуляция различных хромосом,
генов, белков и каскадов передачи сигналов в клетке отличаются от их
нормальной функции и регуляции, это обычно вызвано их гомеостатической
активацией.

20 При использовании в настоящем изобретении термин "аномальная
активация" означает состояние, при котором различные хромосомы, гены, белки
и каскады передачи сигналов активированы в более существенной степени, чем в
нормальных клетках, это может отчасти происходить, например, вследствие
генетических мутаций (Cancer Metastasis Rev, 2013, 32, 147-162), и активацию
25 клеток можно исследовать, например, путем анализа на основе ЖХ/МС-МС (ЖХ
= жидкостная хроматография, МС = масс-спектрометрия), предназначенного для
непосредственного количественного определения наличия мутантов в клетках
(Cancer Discov., 2016, 6, 316 -329).

30 Термин "амплификация белка" означает синтез и амплификацию белков в
живых клетках, например, амплификацию белков, вовлеченных в путь
MAPK/ERK (например, KRAS, NRAS, HRAS, KRAS-ГТФ, NRAS-ГТФ, HRAS-
ГТФ, ERK, АКТ, MEK, pERK, pАКТ и pMEK). Амплификацию белка можно
определить путем анализа с помощью вестерн-блоттинга, сравнительной

геномной гибридизации (СГГ) и т. п., и сопоставления результатов с полученными для белков, содержащихся в нормальных клетках (Nat. Rev. Drug Discov., 2020, 19, 533-552, Molecular Cytogenetics, 2015, 8:103).

В одном объекте рак включает рак, связанный с аномалией гена RAS. Рак, связанный с аномалией гена RAS, означает рак, при котором, например, раковые клетки содержат мутации в кодирующем регионе гена RAS и/или увеличенное количество копий гена RAS и наблюдается повышенная активность RAS (включая образование увеличенного количества белков RAS). Мутация в кодирующем регионе гена RAS означает, например, одно или большее количество следующих: делеции, добавления или замещения оснований в кодирующем регионе гена RAS. Увеличение количества копий гена RAS означает наличие более существенного количества копий гена RAS, чем количество копий гена RAS, обычно содержащееся в хромосомах. Более существенное количество копий означает более существенное количество копий по сравнению с количеством в нормальных клетках и можно считать, что количество копий увеличено, если количество копий равно 4 или более.

Является ли рак раком, связанным с аномалией гена RAS, можно определить путем исследования того, обладает ли субъект, страдающий раком, аномалией гена RAS. Так например, путем установления того, что в биологическом образце, взятом у субъекта, страдающего раком, содержатся мутации в последовательности оснований кодирующего региона гена RAS и последующего исследования экспрессии мутантного белка RAS можно определить, что рак является раком, связанным с аномалией гена RAS.

Является ли рак раком, связанным с аномалией гена RAS, можно определить путем исследования того, обладает ли субъект, страдающий раком, увеличением количества копий гена RAS. Так, например, путем установления того, что в биологическом образце, взятом у субъекта, страдающего раком увеличено количество копий гена RAS и/или увеличено количество образующегося белка RAS, можно определить, что рак является раком, связанным с аномалией гена RAS. Образование увеличенного количества белка RAS также может называться сверхэкспрессированием белка RAS. Образуется ли увеличенное количество белка RAS можно определить, например, путем сопоставления с обычными уровнями экспрессии белка RAS, с уровнем

экспрессии RAS у субъектов, не страдающих раком, или с уровнем экспрессии RAS у субъектов до того, как у них развился рак.

Если у субъекта, страдающего раком, содержится мутация в последовательности оснований кодирующего региона гена RAS и увеличено количество копий гена RAS, то также можно считать, что рак связан с аномалией гена RAS.

Можно использовать любую методику при условии, что с ее помощью можно обнаружить наличие мутаций в кодирующем регионе гена RAS или увеличенное количество копий гена RAS в биологическом образце, взятом у субъекта, страдающего раком, и ее можно провести так, как это обычно известно специалистам в данной области техники. Так, например, из биологического образца, взятого у субъекта, страдающего раком, можно выделить ген RAS, амплифицировать его с помощью ПЦР (полимеразная цепная реакция) или подобным образом, и последовательность оснований можно непосредственно определить с помощью секвенатора или других средств. Кроме того, можно использовать, например, имеющиеся в продаже диагностические лекарственные средства для исследований *in vitro*, с помощью которых можно обнаружить наличие мутаций в гене RAS.

Известны три изоформы белка RAS: белок KRAS, белок NRAS и белок HRAS. В одном объекте геном RAS является один или большее количество генов RAS, выбранных из группы состоящей из следующих: ген KRAS, ген NRAS и ген HRAS. Предпочтительно, если геном RAS является ген KRAS.

В одном объекте рак включает рак, связанный с образованием мутировавших белков RAS и/или образованием увеличенного количества белков RAS. Образование мутантных белков RAS и/или образование увеличенного количества белков RAS обычно связано с аномалией гена RAS, описанной выше.

В одном объекте мутантным белком RAS является по меньшей мере один мутантный белок RAS, выбранный из группы состоящей из следующих: мутантный белок KRAS, мутантный белок NRAS и мутантный белок HRAS. Предпочтительно, если мутантным белком является RAS мутантный белок KRAS.

В одном объекте мутантный белок RAS содержит мутацию по меньшей мере в одном положении аминокислотной последовательности, выбранном из

группы, состоящей из следующих: G12, G13 и Q61, в случае аминокислотной последовательности белка человека KRAS дикого типа, аминокислотной последовательности белка человека NRAS дикого типа или аминокислотной последовательности белка человека HRAS дикого типа. В аминокислотных последовательностях белка человека KRAS, белка человека NRAS и белка человека HRAS дикого типа 12-ой и 13-ой аминокислотами являются глицин и 61-ой аминокислотой является глутамин.

В одном объекте мутантным белком RAS является мутантный белок KRAS и он содержит мутацию по меньшей мере одной аминокислоты, выбранную из группы, состоящей из следующих: G12A, G12C, G12D, G12S, G12V, G13D, Q61H и Q61K, по сравнению с аминокислотной последовательностью белка KRAS дикого типа.

В одном объекте мутантным белком RAS является мутантный белок NRAS и он содержит мутацию по меньшей мере одной аминокислоты, выбранную из группы, состоящей из следующих: G12C, G12D, G13D, G13V, Q61K и Q61L, по сравнению с аминокислотной последовательностью белка NRAS дикого типа.

В одном объекте мутантным белком RAS является мутантный белок NRAS и он содержит мутацию аминокислоты G13R по сравнению с аминокислотной последовательностью белка HRAS дикого типа.

Примеры

Объект настоящего изобретения дополнительно описан в приведенных ниже примерах, но он не ограничивается только ими. Все соединения и реагенты приобретали у коммерческих поставщиков или синтезировали по обычным методикам. В приведенных в настоящем изобретении примерах молекулярно-направленное средство может называться соединением, предназначенным для комбинированного применения.

Соединение 1 ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-втор-бутил)-18-циклопентил-29-(3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенетил)-36-этил-11-изобутил-N,N,5,6,12,16,19,33-октаметил-35-(4-метилбензил)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-ундекаоксотетратриаконтангидро-2H,4H-спиро[азето[2,1-u]пирроло[2,1-i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]ундекаазациклотетратриаконтин-21,1'-циклопентан]-15-карбоксамид) получали по методике синтеза пептидов с

использованием группы Fmoc, описанной в Международной публикации № WO 2021/090855.

А именно, соединение 1 получали путем проведения приведенных ниже четырех стадий:

- 5 1) реакция удлинения пептида по методике с использованием группы Fmoc, начиная с N-концевой аминокислоты в соответствии с последовательностью соединения 1, с использованием карбоксигрупп, содержащихся в (3S)-4-(диметиламино)-3-[9H-флуорен-9-илметоксикарбонил(метил)амино]-4-оксобутановой кислоте, связанной с 2-хлортритильной смолой;
- 10 2) отщепление пептида от 2-хлортритильной смолы;
- 3) циклизация амида путем реакции конденсации карбоксигруппы, освобожденной путем отщепления от 2-хлортритильной смолы, и аминогруппы, содержащейся на N-конце пептидной цепи (N-метиллейцин); и
- 4) очистка соединения с помощью препаративной ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография).

Соединение 2 (2-(4-циклопропил-2-фторанилино)-3,4-дифтор-5-[[3-фтор-2-(метилсульфоамино)-4-пиридил]метил]бензамид) получали по методике, описанной в Международной публикации № WO 2021/149776.

И именно:

- 20 1) 2,3,4-Трифторбензойную кислоту, приобретенную у коммерческих поставщиков, вводили в реакцию с йодом и получали 2,3,4-трифтор-5-йодбензойную кислоту.
- 2) Соединение, полученное при проведении описанной выше реакции, вводили в реакцию сочетания с винилтрифторборатом калия в присутствии палладиевого катализатора и получали 2,3,4-трифтор-5-винилбензойную кислоту.
- 25 3) Соединение, полученное при проведении описанной выше реакции, вводили в реакцию сочетания с 2-фтор-4-йоданилином и получали 3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йоданилино)-5-винилбензойную кислоту.
- 4) Соединение, полученное при проведении описанной выше реакции,
- 30 обрабатывали с помощью периодата натрия и тетраоксида осмия и получали 3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йоданилино)-5-формилбензойную кислоту.

- 5) Соединение, полученное при проведении описанной выше реакции, и раствор диазометилтриметилсилана в гексане вводили в реакцию в метаноле и получали метил-3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йоданилино)-5-формилбензоат.
- 6) Соединение, полученное при проведении описанной выше реакции, вводили в реакцию с 4-метилбензолсульфонилгидразидом и получали метил-3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йоданилино)-5-[(E)-[(4-метилфенил)сульфонилгидразинилиден]метил]бензоат.
- 7) Соединение, полученное при проведении описанной выше реакции, вводили в реакцию с [2-[(2,4-диметоксифенил)метиламино]-3-фторпиридин-4-ил]бороновой кислотой и получали метил-5-[[2-[(2,4-диметоксифенил)метиламино]-3-фторпиридин-4-ил]метил]-3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йоданилино)бензоат.
- 8) Соединение, полученное при проведении описанной выше реакции, вводили в реакцию с трифторуксусной кислотой и получали метил-5-[(2-амино-3-фторпиридин-4-ил)метил]-3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-йоданилино)бензоат.
- 9) Соединение, полученное при проведении описанной выше реакции, обрабатывали хлористоводородной кислотой после проведения гидролиза сложноэфирной группы с помощью гидроксида лития и получали гидрохлорид 5-((2-амино-3-фторпиридин-4-ил)метил)-3,4-дифтор-2-((2-фтор-4-йодфенил)амино)бензойной кислоты.
- 10) Соединение, полученное при проведении описанной выше реакции, вводили в реакцию с ЭДК·HCl (1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимидгидрохлорид), HOObt (3,4-дигидро-3-гидрокси-4-оксо-1,2,3-бензотриазин) и раствором аммиака в метаноле и получали 5-((2-амино-3-фторпиридин-4-ил)метил)-3,4-дифтор-2-((2-фтор-4-йодфенил)амино)бензамид. Затем полученное соединение вводили в реакцию с циклопропилцинкбромидом и получали 5-((2-амино-3-фторпиридин-4-ил)метил)-2-((4-циклопропил-2-фторфенил)амино)-3,4-дифторбензамид.
- 11) Соединение, полученное при проведении описанной выше реакции (2,47 г, 5,74 ммоль), растворяли в безводном ДМФ (N,N-диметилформамид, 28,7 мл), добавляли пиридин (2,78 мл, 34,4 ммоль) и 4-нитрофенилметилсульфамат (4,00 г, 17,2 ммоль) и смесь перемешивали при 40°C в течение 2,5 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли воду (24,7 мл).

Добавляли ацетонитрил (3 мл) и воду (19,8 мл), затем перемешивали в течение 10 мин и затем твердое вещество собирали фильтрованием. Полученное твердое вещество промывали смесью вода/ацетонитрил (1/1, 49,4 мл) и получали соединение 2 (2,56 г, 85%) в виде бесцветного твердого вещества. Молекулярно-направленные средства (соторасиб, RMC-4550, траметиниб и цетуксимаб), отличающиеся от соединения 2, приобретали у коммерческих поставщиков или изготовителей.

<Пример фармакологического исследования>

10 (Пример 1. Исследование ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS *in vitro*)

Воздействие соединения 1, соединения 2, RMC-4550, траметиниба и соторасиба, а также комбинаций этих соединений на фосфорилирование ERK, АКТ и MEK, и на связывание KRAS, NRAS и HRAS с ГТФ в раковых клетках человека исследовали по методике вестерн-блоттинга следующим образом.

15 Линию клеток рака человека высевали в планшет для выращивания клеток в трехмерной структуре PrimeSurface (Sumitomo Bakelite Co., Ltd.) и выращивали при 37°C в течение 24 ч. Затем к клеткам добавляли соединение 1 и соединение, предназначенное для комбинированного применения (молекулярно-направленное средство). Клетки выращивали в инкубаторе в атмосфере, содержащей 5% диоксида углерода, при 37°C, и клетки собирали через

20 количество времени проведения обработки, указанное в таблице 1. В таблице 1 указаны название линии клеток рака человека, среда, количество посеянных клеток, концентрация соединения 1, соединение, предназначенное для комбинированного применения, концентрация соединения, предназначенного для комбинированного применения, и продолжительность обработки. Собранные

25 клетки лизировали в буфере для лизиса (Cell Signaling Technology, Inc.), содержащем ингибитор протеазы (Sigma-Aldrich) и ингибитор фосфатазы (Sigma-Aldrich). Концентрацию белка определяли с помощью набора BCA для анализа белков (Thermo Fisher Scientific Inc.) и получали содержащий белок

30 раствор 1 таким образом, что количество белка в образце составляло от 10 до 20 мкг.

Из полученного содержащего белок раствора 1 с помощью набора Active Ras Pull-Down and Detection (Thermo Fisher Scientific Inc.) извлекали от 300 до

1000 мкг RAS-ГТФ, находящегося в активированной форме, и получали
содержащий белок раствор 2. Проводили SDS-PAGE (электрофорез белков в
полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия) с
использованием полученных выше содержащих белок растворов 1 и 2 и
5 градиентного геля, обладающего концентрацией акриламида, равной от 5 до
20%, и подвергнутый электрофорезу белок переносили на мембрану из ПВДФ
(поливинилиденфторид) с использованием системы для переноса Trans-Blot
Turbo (Bio-Rad Laboratories, Inc.). После блокирования мембрану из ПВДФ
10 вводили в реакцию с первичными антителами и вторичными антителами в
указанном порядке. Исследование с помощью хемилюминесценции проводили с
помощью Chemi-lumi-One Super (NACALAI TESQUE, INC.) и сигналы
детектировали с помощью системы визуализации ChemiDoc Touch (Bio-Rad
Laboratories, Inc.). Используемые первичные антитела и вторичные антитела,
концентрация разведения для всех антител, температура проведения реакции и
15 продолжительность проведения реакции указаны в таблицах 2 и 3. Полученные с
помощью электрофореза изображения, иллюстрирующие результаты
исследования по методике вестерн-блоттинга, с помощью которой исследовали
ингибирующую активность по отношению к передаче сигнала RAS,
представлены на фиг. 1-6. Термины "pERK", "pAKT" и "pMEK" означают
20 фосфорилированные ERK, AKT и MEK соответственно. Термины "KRAS-ГТФ",
"NRAS-ГТФ" и "HRAS-ГТФ" означают KRAS, NRAS и HRAS, которые связаны с
ГТФ соответственно. На фиг. 1-6 показано, что комбинированное применение
соединения 1 и соединения, предназначенного для комбинированного
применения (молекулярно-направленное средство), улучшает ингибирующее
25 воздействие на передачу сигнала RAS по сравнению со случаем применения
только соединения 1 или соединения, предназначенного для комбинированного
применения (молекулярно-направленное средство), в качестве единственного
лекарственного средства.

[Таблица 1]

| Название клеток | Среда | Количество высеянных клеток | Концентрация соединения (1) | Соединение, предназначенное для комбинированного применения | Концентрация соединения, предназначенного для комбинированного применения (М) | Продолжительность обработки (ч) |
|-----------------|--|-----------------------------|-----------------------------|---|---|---------------------------------|
| NCI-H358 | RPMI-1640* + 10% сыворотки | 4×10^6 /чашка | 20 | соторасиб | 30 | 4, 24 или 72 |
| NCI-H1373 | RPMI-1640 + 10% сыворотки + 1 мМ пирувата натрия + 10 мМ HEPES** + 25 мМ D-глюкозы | 4×10^6 /чашка | 20 | соторасиб | 30 | 4, 24 или 72 |
| NCI-H441 | RPMI-1640 + 10% сыворотки + 1 мМ пирувата натрия + 10 мМ HEPES + 25 мМ D-глюкозы | $3,5 \times 10^6$ /чашка | 20 | RMG-4550 | 3000 | 4, 24 или 72 |
| NCI-H441 | RPMI-1640 + 10% сыворотки + 1 мМ пирувата натрия + 10 мМ HEPES + 25 мМ D-глюкозы | 4×10^6 /чашка | 20 | траметиниб | 4 | 4, 24 или 72 |
| NCI-H358 | RPMI-1640 + 10% сыворотки | 4×10^6 /чашка | 20 | соединение 2 | 10 | 4, 24 или 72 |
| NCI-H441 | RPMI-1640 + 10% сыворотки + 1 мМ пирувата натрия + 10 мМ HEPES + 25 мМ D-глюкозы | 4×10^6 /чашка | 20 | соединение 2 | 10 | 4, 24 или 72 |

*RPMI-1640 - среда 1640 Мемориального института Розуэлл-Парка

****HEPES - N-2-гидроксиэтилпиперазин-N-2-этансульфоновая кислота**

[Таблица 2]

| Первичные антитела | Номер по каталогу | Концентрация разведения | Температура проведения реакции | Продолжительность проведения реакции |
|---|----------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| Антитела к KRAS | Sigma, WH0003845M1 | 1/1000 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к NRAS | Abeam, ab77392 | 1/1000 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к HRAS | Proteintech, 18295-1-AP | 1/1000 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к фосфо-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) | Cell Signaling Technology, #9101 | 1/1000 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к p44/42 MAPK (Erk1/2) | Cell Signaling Technology, #9102 | 1/2000 | комнатная температура | 1 ч |
| Антитела к фосфо-Akt (Ser473) | Cell Signaling Technology, #4060 | 1/1000 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к Akt | Cell Signaling Technology, #9272 | 1/2000 | комнатная температура | 1 ч |
| Антитела к фосфо-MEK1/2 (Ser217/221) | Cell Signaling Technology, #9121 | 1/1000 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к MEK1/2 | Cell Signaling Technology, #9122 | 1/2000 | комнатная температура | 1 ч |

[Таблица 3]

| Вторичные антитела | Номер по каталогу | Концентрация разведения | Температура проведения реакции | Продолжительность проведения реакции |
|--|----------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| Антитела к IgG кролика, конъюгированные с HRP* | Cell Signaling Technology, #7074 | 1/10000 | комнатная температура | 1 ч |
| Антитела к IgG мыши, конъюгированные с HRP | Cell Signaling Technology, #7076 | 1/10000 | комнатная температура | 1 ч |
| Антитела к IgG козы, TrueBlot, конъюгированные с HRP | Rockland, #18-8814-33 | 1/10000 | комнатная температура | 1 ч |

5

*HRP - пероксидаза хрена

(Пример 2. Исследование ингибирующей активности соединения 1 и соединения, предназначенного для комбинированного применения (молекулярно-направленное средство), по отношению к росту клеток)

Линии клеток рака человека высевали в круглодонный 384-луночный планшет со сверхнизким прикреплением клеток при концентрации, равной 750 клеток/луночка, и выращивали в инкубаторе в атмосфере, содержащей 5% диоксида углерода, при 37°C. Через 24 ч в часть лунок (3 лунки) добавляли CellTiter-Glo 2.0 (Promega Corporation) и определяли количество АТФ (аденозинтрифосфат) (V_0) с использованием устройств для считывания планшетов Envision (PerkinElmer Co., Ltd.). Значение V_0 соответствовало количеству АТФ в момент времени 0. В другие 3 лунки добавляли только ДМСО (диметилсульфоксид) или соединение 1 и/или соединение, предназначенное для комбинированного применения. Соединение 1 и соединение, предназначенное для комбинированного применения, использовали при серийных разведениях, полученных при проведении 8 стадий, путем разведения каждый раз в 3 раза с соответствующими максимальными концентрациями, равными 300 нМ, и 10 или 3000 нМ. Так, например, в таблице 4, "от 0,14 до 300" означает, что максимальная концентрация равна "300" нМ, и это указывает на то, что использовали следующие разведения: "300, примерно 100, примерно 33, примерно 11, примерно 3,7, примерно 1,2, примерно 0,41 или примерно 0,14 нМ". После выращивания в течение 144 ч после добавления только ДМСО или соединения 1 и/или соединения, предназначенного для комбинированного применения, определяли количество АТФ (T и V) в клетках, к которым добавляли только ДМСО (группа, обработанная с помощью ДМСО), или в клетках, к которым добавляли соединение 1 и/или соединение, предназначенное для комбинированного применения (группа, обработанная соединением 1 и/или соединением, предназначенным для комбинированного применения). В таблице 4 указаны название линии раковых клеток, среда, концентрация соединения 1, соединение, предназначенное для комбинированного применения, и концентрация соединения, предназначенного для комбинированного применения. Степень подавления роста (подавление роста, %: ПР, %) рассчитывали с использованием приведенных ниже формул. Как показано на фиг. 7а, фиг. 8а и фиг. 9а, соединение 1 и соединение, предназначенное для

комбинированного применения, оказывают зависящее от концентрации подавляющее рост воздействие.

$$(1 - (T - V_0)/V_0) \times 100 \text{ (если } T < V_0)$$

$$(1 - (T - V_0)/(V - V_0)) \times 100 \text{ (если } T \geq V_0)$$

- 5 T: значение сигнала АТФ через 144 ч для группы, обработанной соединением 1 и/или соединением, предназначенным для комбинированного применения
V: значение сигнала АТФ через 144 ч для группы, обработанной с помощью ДМСО

V₀: значение сигнала АТФ для необработанной группы

- 10 С использованием полученного значения ПР по приведенной ниже методике проводили анализ путем построения изоболограммы. Значения ПР, использовавшиеся для исследования комбинированного воздействия, являлись такими, как приведенные ниже:

- (1) Расчет значения ПР, % (установленное значение ПР, %), для исследования комбинированного воздействия соединения 1 и соединения, предназначенного для комбинированного применения, и концентрации соединения (установленная концентрация ПР), которая обеспечивает установленное значение ПР, %

- 20 - Исследовали комбинированное применение соединения 1 и RMC-4550 (клетки NCI-H358): в качестве установленного значения ПР, %, использовали равное 155% (также обозначенное, как "ПР 155%" или "ПР 155") (установленная концентрация ПР для соединения 1 составляла 0,033 мкМ и установленная концентрация ПР для RMC-4550 составляла 0,55 мкМ).

- 25 - Исследовали комбинированное применение соединения 1 и RMC-4550 (клетки NCI-H441): в качестве установленного значения ПР, %, использовали равное 100% (также обозначенное, как "ПР 100%" или "ПР 100") использовали (установленная концентрация ПР для соединения 1 составляла 0,0055 мкМ и установленная концентрация ПР для RMC-4550 составляла 0,35 мкМ).

- 30 - Исследовали комбинированное применение соединения 1 и траметиниба (клетки NCI-H358): в качестве установленного значения ПР, %, использовали равное 50% (также обозначенное, как "ПР 50%" или "ПР 50") (установленная концентрация ПР для соединения 1 составляла 0,0046 мкМ и установленная концентрация ПР для траметиниба составляла 0,00035 мкМ).

(2) Исследование комбинаций концентраций соединения 1 и соединения, предназначенного для комбинированного применения, которые обеспечивали каждое установленное значение ПР, %, указанное в (1), и представление результатов комбинированного воздействия в виде графика

- 5 - По оси абсцисс указаны значения, полученные путем деления концентрации соединения, предназначенного для комбинированного применения, на установленную концентрацию ПР, и по оси ординат указаны значения, полученные путем деления концентрации соединения 1 на установленную концентрацию ПР.
- 10 - Определяли концентрации комбинации соединения 1 и соединения, предназначенного для комбинированного применения, которые обеспечивали установленное значение ПР, %, в разных линиях клеток и стоили зависимости в соответствии со значениями, указанными по оси абсцисс и оси ординат.

15 Результаты исследования ингибирующей активности соединения 1 и соединения, предназначенного для комбинированного применения, по отношению к росту клеток, представлены на фиг. 7 - фиг. 9. На каждом из фиг. 7б, фиг. 8б и фиг. 9б представлена диаграмма, называемая изоболограммой. На изоболограмме пунктирная линия, соединяющая находящееся на оси ординат значение "1,0" и находящееся на оси абсцисс значение "1,0" описывает случай,

20 когда степень подавления роста при комбинированном применении соединения 1 и соединения, предназначенного для комбинированного применения, является простой суммой степеней подавления роста при использовании каждого соединения по отдельности (аддитивные эффекты). Зависимость, расположенная ниже пунктирной линии, означает, что применение комбинации соединения 1 и

25 соединения, предназначенного для комбинированного применения, обеспечивает синергетическое подавление роста. Чем сильнее отклоняется зависимость от пунктирной линии, тем сильнее синергетический эффект. Как показано на фиг. 7б, фиг. 8б и фиг. 9б, установлено, что комбинированное применение

30 соединения 1 и соединения, предназначенного для комбинированного применения, обеспечивает синергетическое подавление роста, поскольку на всех чертежах зависимость отклоняется от пунктирной линии.

[Таблица 4]

| Название клеток | Среда | Концентрация соединения 1 (нМ) | Соединение, предназначенное для комбинированного применения | Концентрация соединения, предназначенного для комбинированного применения (нМ) |
|-----------------|---------------------------|--------------------------------|---|--|
| NCI-H358 | RPMI-1640 + 10% сыворотки | 0,14-300 | RMC-4550 | 1,4-3000 |
| NCI-H441 | RPMI-1640 + 10% сыворотки | 0,14-300 | RMC-4550 | 1,4-3000 |
| NCI-H358 | RPMI-1640 + 10% сыворотки | 0,14-300 | траметиниб | 0,0046-10 |

(Пример 3. Исследование противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и цетуксимаба)

5 Для исследования противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и цетуксимаба, использовали модель ксенотрансплантата, где трансплантировали линию клеток колоректального рака LoVo (KRAS-G13D). Голым мышам подкожно трансплантировали 5×10^6 клеток/мышь и после того, как объемы опухолей становились равными от 200 до 300 мм³, голых мышей располагали в случайном 10 порядке и разделяли на 4 группы, каждая группа включала 8 мышей. В группе, в которой проводили монотерапию (8 мышей/группа), вводили соединение 1 или цетуксимаб, и в группе, в которой вводили два лекарственных средства (8 мышей/группа), вводили соединение 1 и цетуксимаб. Продолжительность введения составляла 10 дней и соединение 1 вводили перорально один раз в 15 сутки, и цетуксимаб вводили внутривенно два раза в неделю. Соединение 1 вводили при дозе, равной 10 мг/кг, и цетуксимаб вводили при дозе, равной 40 мг/кг. Соединение 1 растворяли в смеси 10% ДМСО/5% кремофора EL/85% дистиллированной воды и проводили введение. Цетуксимаб разбавляли физиологическим раствором и проводили введение. Степень подавления роста 20 опухоли (подавление роста опухоли, %: ПРО, %) рассчитывали с использованием приведенных ниже формул. Результаты исследования противоопухолевой активности *in vivo* представлены на фиг. 10. По сравнению с группой, в которой вводили разбавитель, в группах, в которых вводили средства 25 (группа, в которой вводили соединение 1 в виде монотерапии, группа, в которой вводили цетуксимаб в виде монотерапии, и группа, в которой вводили два

лекарственных средства - соединение 1 и цетуксимаб), наблюдали усиление подавления объема опухоли. Кроме того, при сопоставлении результатов для группы, в которой проводили монотерапию, и группы, в которой вводили два лекарственных средства (группа, в которой проводили комбинированное применение), видно, что в группе, в которой вводили два лекарственных средства, обеспечено уменьшение объема опухоли, это указывает на увеличение противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и цетуксимаба.

Степень подавления роста опухоли (ПРО, %) = $(1 - TV/CV) \times 100$

10 Объем опухоли (мм^3) = $1/2 \times \text{длинная ось (мм)} \times \text{короткая ось (мм)} \times \text{короткая ось (мм)}$

Изменение объема опухоли (мм^3) = объем опухоли в день 32, 36 или 39 - объем опухоли в день 29

15 TV: среднее значение для изменения объема опухоли в случае группы, в которой вводили соединение 1 в виде монотерапии, группы, в которой вводили цетуксимаб в виде монотерапии, или группы, в которой проводили комбинированное применение

CV: среднее значение для изменения объема опухоли в случае группы, в которой вводили разбавитель

20 (Пример 4. Исследование ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS *in vivo*)

После завершения исследования, описанного в примере 3, каждой голый мыши ($n = 3$) повторно вводили соединение 1 (10 мг/кг) и цетуксимаб (40 мг/кг); через 4 ч опухоли извлекали, замораживали с использованием жидкого азота и хранили при -80°C . Затем при охлаждении жидким азотом собранные опухоли измельчали с помощью устройства Multi-beads Shocker (Yasui Kikai Corporation), и исследовали ингибирующую активность соединения 1 и цетуксимаба по отношению к передаче сигнала RAS в модели ксенотрансплантата по такой же методике, как описанная в примере 1 (исследование ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS *in vitro*). Используемые первичные антитела и вторичные антитела, концентрация разведения для всех антител, продолжительность проведения реакции и температура проведения реакции указаны в таблицах 5 и 6. Полученные с помощью электрофореза изображения,

иллюстрирующие результаты исследования по методике вестерн-блоттинга, с помощью которой исследовали ингибирующую активность по отношению к передаче сигнала RAS *in vivo*, представлены на фиг. 11. Термин "KRAS-ГТФ" означает "KRAS", связанный с ГТФ, и термины "pERK", "pAKT" и "pEGFR" означают фосфорилированные "ERK", "AKT" и "EGFR" соответственно.

Показано, что комбинированное применение соединения 1 и цетуксимаба обеспечивает уменьшение количества KRAS-ГТФ и pERK по сравнению со случаем применения только соединения 1 или соторасиба в качестве единственного лекарственного средства, это указывает на то, что улучшено подавление передачи сигнала RAS.

[Таблица 5]

| Первичные антитела | Номер по каталогу | Концентрация разведения | Температура проведения реакции | Продолжительность проведения реакции |
|---|----------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| Антитела к KRAS | Sigma, WH0003845M1 | 1/500 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к фосфо-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) | Cell Signaling Technology, #9101 | 1/500 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к p44/42 MAPK (Erk1/2) | Cell Signaling Technology, #9102 | 1/2000 | комнатная температура | 1 ч |
| Антитела к фосфо-Akt (Ser473) | Cell Signaling Technology, #4060 | 1/200 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к Akt | Cell Signaling Technology, #9272 | 1/2000 | комнатная температура | 1 ч |
| Антитела к рецептору фосфо-EGF (Tyr1068) | Cell Signaling Technology, #3777 | 1/1000 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к рецептору EGF | Cell Signaling Technology, #4267 | 1/2000 | комнатная температура | 1 ч |

[Таблица 6]

| Вторичные антитела | Номер по каталогу | Концентрация разведения | Температура проведения реакции | Продолжительность проведения реакции |
|---|----------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| Антитела к IgG кролика, конъюгированные с HRP | Cell Signaling Technology, #7074 | 1/10000 | комнатная температура | 1 ч |

| Вторичные антитела | Номер по каталогу | Концентрация разведения | Температура проведения реакции | Продолжительность проведения реакции |
|--|----------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| Антитела к IgG мыши, конъюгированные с HRP | Cell Signaling Technology, #7076 | 1/10000 | комнатная температура | 1 ч |

(Пример 5. Исследование противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и бевацизумаба)

Для исследования противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и бевацизумаба, использовали модель ксенотрансплантата, где трансплантировали линию клеток рака поджелудочной железы AsPC-1 (KRAS-G12D). Голым мышам подкожно трансплантировали 5×10^6 клеток/мышь и после того, как объемы опухолей становились равными от 200 до 300 мм³, голых мышей располагали в случайном порядке и разделяли на 4 группы, каждая группа включала 8 мышей. В группе, в которой проводили монотерапию (8 мышей/группа), вводили соединение 1 или бевацизумаб, и в группе, в которой вводили два лекарственных средства (8 мышей/группа), вводили соединение 1 и бевацизумаб. Продолжительность введения составляла 17 дней и соединение 1 вводили перорально один раз в сутки, и бевацизумаб вводили путем внутривенной инъекции два раза в неделю. Соединение 1 вводили при дозе, равной 10 мг/кг, и бевацизумаб вводили при дозе, равной 2,5 мг/кг. Соединение 1 растворяли в смеси 10% ДМСО/5% кремофора EL/85% дистиллированной воды и проводили введение. Бевацизумаб разбавляли физиологическим раствором и проводили введение. Степень подавления роста опухоли (подавление роста опухоли, %: ПРО, %) рассчитывали с использованием приведенных ниже формул. Результаты исследования противоопухолевой активности *in vivo* представлены на фиг. 12. По сравнению с группой, в которой вводили разбавитель, в группе, в которой вводили соединение 1 в виде монотерапии, и в группе, в которой вводили два лекарственных средства - соединение 1 и бевацизумаб, наблюдали усиление подавления объема опухоли. С другой стороны, в группе, в которой вводили бевацизумаб в виде монотерапии, не наблюдали существенного усиления подавления объема опухоли. Кроме того, при сопоставлении результатов для группы, в которой проводили монотерапию, и группы, в которой вводили два

лекарственных средства (группа, в которой проводили комбинированное применение), видно, что в группе, в которой вводили два лекарственных средства, обеспечено уменьшение объема опухоли, это указывает на увеличение противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и бевацизумаба.

Степень подавления роста опухоли (ПРО, %) = $(1 - TV/CV) \times 100$

Объем опухоли (мм^3) = $1/2 \times \text{длинная ось (мм)} \times \text{короткая ось (мм)} \times \text{короткая ось (мм)}$

Изменение объема опухоли (мм^3) = $\frac{\text{объем опухоли в день 25, 29, 32, 36 или 39} - \text{объем опухоли в день 22}}$

TV: среднее значение для изменения объема опухоли в случае группы, в которой вводили соединение 1 в виде монотерапии, группы, в которой вводили бевацизумаб в виде монотерапии, или группы, в которой проводили комбинированное применение

CV: среднее значение для изменения объема опухоли в случае группы, в которой вводили разбавитель

(Пример 6. Исследование ингибирующей активности по отношению к росту клеток, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и соторасиба)

Линию клеток колоректального рака человека SW837 высевали в 96-луночный планшет для выращивания клеток в двумерной структуре (Corning) при плотности, равной 10000 клеток/лунка ($n = 3$), выращивали в инкубаторе в атмосфере, содержащей 5% диоксида углерода, при 37°C. Используемой средой являлась среда Лейбовица L-15 + 10% сыворотки. Через 24 ч после высевания среду заменяли на среду, содержащую ДМСО/30 нМ соединения 1/300 нМ соторасиба/30 нМ соединения 1 + 300 нМ соторасиба и каждые 24 ч определяли плотность клеток с помощью системы Incucyte ZOOM. Среду заменяли на среду, содержащую соединение, примерно два раза в неделю и исследование проводили в течение 52 дней. Результаты исследования ингибирующей активности по отношению к росту клеток, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и соторасиба, представлены на фиг. 13. На фиг. 13 по оси ординат указано выраженное в процентах количество выращенных клеток, покрывающих клейкий слой сосуда для выращивания

(плотность клеток, относительная площадь, заполненная клетками, слияние), и по оси абсцисс указано количество дней после начала определения плотности клеток. Как показано на фиг. 13, комбинация соединения 1 и соторасиба обеспечивает улучшение подавления роста линии клеток колоректального рака человека SW837.

(Пример 7. Исследование ингибирующей активности соединения 1 и соединения, предназначенного для комбинированного применения, по отношению к росту клеток)

Линии клеток рака человека высевали в высевали 384-луночные планшеты с вогнутыми лунками с низкой адсорбцией клеток (Sumitomo Bakelite) при плотности, равной 1000 клеток/лунка (HCC-1171), 500 клеток/лунка (NCI-H1373), 625 клеток/лунка (NCI-H23) и 250 клеток/лунка (UM-UC-3) (n=1) и выращивали в инкубаторе в атмосфере, содержащей 5% диоксида углерода, при 37°C. Среду, содержащую соединение 1 и/или соединение, предназначенное для комбинированного применения, готовили таким образом, что, если соединение 1 и MRTX849 использовали в комбинации, то соединение 1 серийно разводили путем проведения 9 стадий каждый раз с разведением в 3 раза и MRTX849 серийно разводили путем проведения 5 стадий каждый раз с разведением в 5 раз, и, если соединение 1 и TNO155 использовали в комбинации, то соединение 1 серийно разводили путем проведения 9 стадий каждый раз с разведением в 3 раза и TNO155 серийно разводили путем проведения 5 стадий каждый раз с разведением в 5 раз, и два средства при всех установленных концентрациях смешивали с получением комбинации для исследования комбинированного воздействия (10 концентраций и 6 комбинаций концентраций, включая группу, в которой использовали ДМСО). После выращивания в течение 144 ч после добавления соединения 1 и/или соединения, предназначенного для комбинированного применения, с помощью CellTiter Glo 2.0 определяли количество АТФ в группах, обработанных соединением. В таблице 7 указаны название линии раковых клеток, среда, название соединения и конечная концентрация соединения при проведении исследования. На основании значений сигнала, полученных с помощью CellTiter Glo 2.0, с использованием приведенных ниже формул рассчитывали степень подавления роста клеток (ПРК, %: подавление роста клеток, %).

Степень подавления роста клеток (ПРК, %) = $(1 - (TV - V_0) / (CV - V_0)) \times 100$

TV: значение сигнала АТФ через 144 ч для группы, обработанной соединением

CV: значение сигнала АТФ через 144 ч для группы, обработанной с помощью ДМСО

5 V_0 : значение сигнала АТФ через 144 ч только для среды (без высеянных клеток)

С использованием полученных значений ПРК по приведенной ниже методике проводили анализ путем построения изоболограммы.

Результаты исследования ингибирующей активности соединения 1 и соединения, предназначенного для комбинированного применения, по отношению к росту клеток представлены на фиг. 14 и фиг. 15. По оси x (ось абсцисс) и оси y (ось ординат) указаны концентрации соединения 1 и соединения, предназначенного для комбинированного применения, соответственно, и сначала на ось x или ось y наносили значения концентрации соединения 1, используемого в качестве единственного лекарственного средства, и концентрации соединения, предназначенного для комбинированного применения, используемого в качестве единственного лекарственного средства, необходимые для обеспечения значения ПРК, равного 50% (HCC-1171, NCI-H1373 и NCI-H23), или значения ПРК, равного 70% (UM-UC-3). Прямая линия, соединяющая точку на оси x и точку на оси y, описывает случай, когда

10 степень подавления роста при комбинированном применении соединения 1 и соединения, предназначенного для комбинированного применения, является простой суммой степеней подавления роста при использовании каждого соединения по отдельности (аддитивные эффекты). Затем на график наносили значения концентраций соединения 1 и соединения, предназначенного для

15 комбинированного применения, необходимые для обеспечения значений ПРК при использовании средств в комбинации. Зависимость, соответствующая комбинированному применению, расположенная ниже прямой линии, соединяющей точку на оси x и точку на оси y, означает, что комбинация средств обеспечивает синергетическое подавление роста, и чем сильнее отклоняется

20 зависимость от прямой линии, тем сильнее синергетический эффект. Как показано на фиг. 14 и фиг. 15, установлено, что комбинированное применение соединения 1 и соединения, предназначенного для комбинированного

25

30

применения, обеспечивает синергетическое подавление роста, поскольку на всех чертежах зависимость отклоняется от прямой линии.

[Таблица 7]

| Название клеток | Среда | Концентрация соединения 1 (нМ) | Соединение, предназначенное для комбинированного применения | Концентрация соединения, предназначенного для комбинированного применения (нМ) |
|-----------------|--|--------------------------------|---|--|
| HCC-1171 | RPMI-1640 + 10% сыворотки + 25 мМ HEPES | 0,15-1000 | MRTX849 | 0,48-300 |
| NCI-H1373 | RPMI-1640 + 10% сыворотки + 1 мМ пирувата натрия + 10 мМ HEPES + 25 мМ D-глюкозы | 0,15-1000 | MRTX849 | 0,48 - 300 |
| HCC-1171 | RPMI-1640 + 10% сыворотки + 25 мМ HEPES | 0,15-1000 | TNO155 | 16-10000 |
| NCI-H23 | RPMI-1640 + 10% сыворотки + 1 мМ пирувата натрия + 10 мМ HEPES + 25 мМ D-глюкозы | 0,15-1000 | TNO155 | 16-10000 |
| NCI-H1373 | RPMI-1640 + 10% сыворотки + 1 мМ пирувата натрия + 10 мМ HEPES + 25 мМ D-глюкозы | 0,15-1000 | TNO155 | 16-10000 |
| UM-UC-3 | МЭСИ* + 10% сыворотки + 0,1 мМ заменимой аминокислоты + 1 мМ пирувата натрия | 0,15-1000 | TNO155 | 16-10000 |

5 *МЭСИ - минимальная эссенциальная среда Игла

(Пример 8. Исследование противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и соторасиба)

10 Противоопухолевую активность *in vivo*, обусловленную комбинированным применением соединения 1 и соторасиба, исследовали с использованием модели рака легких на голых мышах, которым трансплантировали CTG-2579 (KRAS-G12C), PDX (полученный от пациента ксенотрансплантат). Голым мышам подкожно трансплантировали фрагменты опухоли и после того, как объем опухоли становился равным примерно от 150 до 300 мм³, животных располагали

в случайном порядке и начинали введение соединения 1 и/или соединения, предназначенного для комбинированного применения (n = 8). Соединение 1 и соторасиб вводили перорально один раз в сутки в течение периода введения, составляющего 21 день. Дозы средств составляли 7,5 мг/кг в случае соединения 1 и 100 мг/кг в случае соторасиба. Соединение 1 растворяли в смеси 10% ДМСО/5% кремофора EL/85% дистиллированной воды и соторасиб растворяли в смеси 10% ДМСО/10% кремофора EL/15% ПЭГ-400/2,64% ГПБЦД/62,36% дистиллированной воды (ПЭГ = полиэтиленгликоль, ГПБЦД = 2-гидроксипропил-бета-циклодекстрин) и проводили введение. На основании результатов для объемов опухолей, полученных в последний день проведения исследования, с использованием приведенных ниже формул рассчитывали степень подавления роста опухоли (подавление роста опухоли, %: ПРО, %). Результаты исследования противоопухолевой активности *in vivo* представлены на фиг. 16. По сравнению с группой, в которой вводили разбавитель, в группе, в которой вводили соединение 1 в виде монотерапии, в группе, в которой вводили соторасиб в виде монотерапии, и в группе, в которой вводили два лекарственных средства - соединение 1 и соторасиб, наблюдали усиление подавления объема опухоли. Кроме того, при сопоставлении результатов для группы, в которой проводили монотерапию, и группы, в которой вводили два лекарственных средства (группа, в которой проводили комбинированное применение), видно, что в группе, в которой вводили два лекарственных средства, обеспечено уменьшение объема опухоли, это указывает на увеличение противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и соторасиба.

25 Степень подавления роста опухоли (ПРО, %) = $(1 - TV/CV) \times 100$

Объем опухоли (мм³) = $1/2 \times \text{длинная ось (мм)} \times \text{короткая ось (мм)} \times \text{короткая ось (мм)}$

Изменение объема опухоли (мм³) = объем опухоли после дня 0 - объем опухоли в день 0

30 TV: среднее значение для изменения объема опухоли в случае группы, в которой вводили соединение 1 в виде монотерапии, группы, в которой вводили соторасиб в виде монотерапии, или группы, в которой проводили комбинированное применение

CV: среднее значение для изменения объема опухоли в случае группы, в которой вводили разбавитель

(Пример 9. Исследование ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и соторасиба)

После завершения исследования, описанного в примере 8, каждой голой мыши (n = 3) повторно вводили соединение 1 и соторасиб при дозе, равной 7,5 мг/кг и 100 мг/кг соответственно; через 4 ч опухоли извлекали, замораживали с использованием жидкого азота и хранили при -80°C. Затем при охлаждении жидким азотом собранные опухоли (образцы PDX) измельчали с помощью устройства Multi-beads Shocker (Yasui Kikai Corporation) и исследовали ингибирующую активность соединения 1 и соторасиба по отношению к передаче сигнала RAS в PDX по такой же методике, как описанная в примере 1 для исследования ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS *in vitro*. Используемые первичные антитела и вторичные антитела, концентрация разведения, продолжительность проведения реакции и температура проведения реакции указаны в таблицах 8 и 9. Полученные с помощью электрофореза изображения, иллюстрирующие результаты исследования по методике вестерн-блоттинга, с помощью которой исследовали ингибирующую активность по отношению к передаче сигнала RAS *in vivo*, представлены на фиг.17. Термин "KRAS-ГТФ" означает "KRAS", связанный с ГТФ, и термины "pERK" и "pAKT" означают фосфорилированные "ERK" и "AKT" соответственно. Показано, что комбинированное применение соединения 1 и соторасиба обеспечивает уменьшение количества pERK по сравнению со случаем применения только соединения 1 или соторасиба в качестве единственного лекарственного средства, это указывает на то, что улучшено подавление передачи сигнала MAPK.

[Таблица 8]

| Первичные антитела | Номер по каталогу | Концентрация разведения | Температура проведения реакции | Продолжительность проведения реакции |
|--------------------|--------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| Антитела к KRAS | Sigma, WH0003845M1 | 1/1000 | 4°C | в течение ночи |

| Первичные антитела | Номер по каталогу | Концентрация разведения | Температура проведения реакции | Продолжительность проведения реакции |
|---|----------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| Антитела к фосфо-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) | Cell Signaling Technology, #9101 | 1/1000 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к p44/42 MAPK (Erk1/2) | Cell Signaling Technology, #9102 | 1/2000 | комнатная температура | 1 ч |
| Антитела к фосфо-Akt (Ser473) | Cell Signaling Technology, #4060 | 1/1000 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к Akt | Cell Signaling Technology, #9272 | 1/2000 | комнатная температура | 1 ч |

[Таблица 9]

| Вторичные антитела | Номер по каталогу | Концентрация разведения | Температура проведения реакции | Продолжительность проведения реакции |
|---|----------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| Антитела к IgG кролика, конъюгированные с HRP | Cell Signaling Technology, #7074 | 1/10000 | комнатная температура | 1 ч |
| Антитела к IgG мыши, конъюгированные с HRP | Cell Signaling Technology, #7076 | 1/10000 | комнатная температура | 1 ч |

- (Пример 10. Исследование противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и MRTX849)
- Для исследования противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и MRTX849, использовали модель ксенотрансплантата, где трансплантировали линию клеток рака легких LU65 (KRAS-G12C) или линию клеток рака мочевого пузыря UM-UC-3 (KRAS-G12C).
- Голым мышам подкожно трансплантировали 5×10^6 клеток/мышь и после того, как объем опухоли становился равным примерно от 200 до 300 мм³, голых мышей располагали в случайном порядке и начинали введение соединения 1 и/или соединения, предназначенного для комбинированного применения (n = 6). Соединение 1 и MRTX849 вводили перорально один раз в сутки в течение периода введения, составляющего 45 дней. Дозы средств составляли 3 мг/кг в случае соединения 1 и 100 мг/кг в случае MRTX849. Соединение 1 растворяли в

смеси 10% ДМСО/5% кремофора EL/85% дистиллированной воды и MRTX849 растворяли в смеси 50 мМ цитратного буфера (pH=5,0)/10% ГПБЦД и проводили введение. На основании результатов для объемов опухолей, полученных в последний день проведения исследования, с использованием приведенных ниже формул рассчитывали степень подавления роста опухоли (подавление роста опухоли, %: ПРО, %). Результаты исследования противоопухолевой активности *in vivo* представлены на фиг. 18. В модели с использованием линии клеток рака легких (LU65) и линии клеток мочевого пузыря (UM-UC-3) показано, что по сравнению с группой, в которой вводили разбавитель, в группе, в которой вводили MRTX849 в виде монотерапии, и в группе, в которой вводили два лекарственных средства - соединение 1 и MRTX849, наблюдали усиление подавления объема опухоли. В группе, в которой вводили соединение 1 в виде монотерапии, не наблюдали усиление подавления объема опухоли. Хотя в случае группы, в которой вводили MRTX849 в виде монотерапии, наблюдали подавление увеличения объема опухоли сразу после начала введения, после продолжения введения у многих мышей наблюдали возобновление роста опухоли. В группе, в которой вводили два лекарственных средства (группа, в которой проводили комбинированное применение), наблюдали долговременное подавление возобновления роста опухоли, наблюдающегося в группе, в которой вводили MRTX849 в виде монотерапии, это указывает на увеличение противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и MRTX849.

$$\text{Степень подавления роста опухоли (ПРО, \%)} = (1 - TV/CV) \times 100$$

$$\text{Объем опухоли (мм}^3\text{)} = 1/2 \times \text{длинная ось (мм)} \times \text{короткая ось (мм)} \times \text{короткая ось (мм)}$$

$$\text{Изменение объема опухоли (мм}^3\text{)} = \text{объем опухоли после дня 0} - \text{объем опухоли в день 0}$$

TV: среднее значение для изменения объема опухоли в случае группы, в которой вводили соединение 1 в виде монотерапии, группы, в которой вводили MRTX849 в виде монотерапии, или группы, в которой проводили комбинированное применение

CV: среднее значение для изменения объема опухоли в случае группы, в которой вводили разбавитель

(Пример 11. Исследование противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и TNO155)

Для исследования противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и TNO155, использовали модель ксенотрансплантата, где трансплантировали линию клеток рака легких NCI-Н1373 (KRAS-G12C). Голым мышам подкожно трансплантировали 5×10^6 клеток/мышь и после того, как объем опухоли становился равным от 200 до 300 мм³, животных располагали в случайном порядке и начинали введение соединения 1 и/или соединения, предназначенного для комбинированного применения (n = 8). Соединение 1 вводили перорально один раз в сутки и TNO155 вводили перорально два раза в сутки в течение периода введения, составляющего 35 дней. Дозы средств составляли 5 мг/кг в случае соединения 1 и 5 мг/кг в случае TNO155. Соединение 1 растворяли в смеси 10% ДМСО/5% кремофора EL/85% дистиллированной воды и TNO155 растворяли в смеси 0,5% Tween 80/0,5% метилцеллюлозы/99% дистиллированной воды и проводили введение. На основании результатов для объемов опухолей, полученных в последний день проведения исследования, с использованием приведенных ниже формул рассчитывали степень подавления роста опухоли (подавление роста опухоли, %: ПРО, %). Результаты исследования противоопухолевой активности *in vivo* представлены на фиг. 19. По сравнению с группой, в которой вводили разбавитель, в группе, в которой вводили соединение 1 в виде монотерапии, в группе, в которой вводили TNO155 в виде монотерапии, и в группе, в которой вводили два лекарственных средства - соединение 1 и TNO155, наблюдали усиление подавления объема опухоли. Кроме того, при сопоставлении результатов для группы, в которой проводили монотерапию, и группы, в которой вводили два лекарственных средства (группа, в которой проводили комбинированное применение), видно, что в группе, в которой вводили два лекарственных средства, обеспечено дополнительное уменьшение объема опухоли, это указывает на увеличение противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и TNO155.

Степень подавления роста опухоли (ПРО, %) = $(1 - TV/CV) \times 100$

Объем опухоли (мм³) = $1/2 \times \text{длинная ось (мм)} \times \text{короткая ось (мм)} \times \text{короткая ось (мм)}$

Изменение объема опухоли (мм^3) = объем опухоли после дня 0 - объем опухоли
в день 0

TV: среднее значение для изменения объема опухоли в случае группы, в которой вводили соединение 1 в виде монотерапии, группы, в которой вводили TNO155 в виде монотерапии, или группы, в которой проводили комбинированное применение

CV: среднее значение для изменения объема опухоли в случае группы, в которой вводили разбавитель

(Пример 12. Исследование противоопухолевой активности *in vivo*,

10 обусловленной комбинированным применением соединения 1 и соединения 2)

Для исследования противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и соединения 2, использовали модель ксенотрансплантата, где трансплантировали линию клеток рака легких NCI-H441 (KRAS-G12C) или NCI-H1373 (KRAS-G12C). Голым мышам подкожно трансплантировали 5×10^6 клеток/мышь и после того, как объем опухоли становился равным от 200 до 300 мм^3 , животных располагали в случайном порядке и начинали введение соединения 1 и/или соединения, предназначенного для комбинированного применения ($n = 5$). Соединение 1 и соединение 2 вводили перорально один раз в сутки в течение периода введения, составляющего 14 дней. Дозы средств составляли 3 мг/кг или 5 мг/кг в случае соединения 1 и 0,25 мг/кг в случае соединения 2. Соединение 1 растворяли в смеси 10% ДМСО/5% кремофора EL/85% дистиллированной воды и соединение 2 растворяли в смеси 10% ДМСО/10% кремофора EL/15% ПЭГ-400/15% ГПБЦД/50% дистиллированной воды и проводили введение. На основании результатов для объемов опухолей, полученных в последний день проведения исследования, с использованием приведенных ниже формул рассчитывали степень подавления роста опухоли (подавление роста опухоли, %: ПРО, %). Результаты исследования противоопухолевой активности *in vivo* представлены на фиг. 20 и 21. По сравнению с группой, в которой вводили разбавитель, в группе, в которой вводили соединение 1 в виде монотерапии, в группе, в которой вводили соединение 2 в виде монотерапии, и в группе, в которой вводили два лекарственных средства - соединение 1 и соединение 2, наблюдали усиление подавления объема опухоли. Кроме того, при сопоставлении

15

20

25

30

результатов для группы, в которой проводили монотерапию, и группы, в которой вводили два лекарственных средства (группа, в которой проводили комбинированное применение), видно, что в группе, в которой вводили два лекарственных средства, обеспечено дополнительное уменьшение объема опухоли, это указывает на увеличение противоопухолевой активности *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и соединения 2.

Степень подавления роста опухоли (ПРО, %) = $(1 - TV/CV) \times 100$

Объем опухоли (мм^3) = $1/2 \times \text{длинная ось (мм)} \times \text{короткая ось (мм)} \times \text{короткая ось (мм)}$

Изменение объема опухоли (мм^3) = объем опухоли после дня 0 - объем опухоли в день 0

TV: среднее значение для изменения объема опухоли в случае группы, в которой вводили соединение 1 в виде монотерапии, группы, в которой вводили соединение 2 в виде монотерапии, или группы, в которой проводили

комбинированное применение

CV: среднее значение для изменения объема опухоли в случае группы, в которой вводили разбавитель

(Пример 13. Исследование ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS *in vivo*, обусловленной комбинированным применением соединения 1 и соединения 2)

После завершения исследования противоопухолевой активности в клетках NCI-H441 *in vivo*, описанного в примере 12, каждой голой мыши ($n = 3$) повторно вводили соединение 1 и соединение 2 при дозе, равной 5 мг/кг и 0,25 мг/кг соответственно; через 4 ч опухоли извлекали, замораживали с

использованием жидкого азота и хранили при -80°C . Затем при охлаждении жидким азотом собранные образцы ксенотрансплантата измельчали с помощью устройства Multi-beads Shocker (Yasui Kikai Corporation) и исследовали ингибирующую активность соединения 1 и соединения 2 по отношению к

передаче сигнала RAS в ксенотрансплантатах по такой же методике, как

описанная в примере 1 (исследование ингибирующей активности по отношению к передаче сигнала RAS *in vitro*). Используемые первичные антитела и вторичные антитела, концентрация разведения, продолжительность проведения реакции и температура проведения реакции указаны в таблицах 10 и 11.

Полученные с помощью электрофореза изображения, иллюстрирующие результаты исследования по методике вестерн-блоттинга, с помощью которой исследовали ингибирующую активность по отношению к передаче сигнала RAS *in vivo*, представлены на фиг. 22. Термин "KRAS-ГТФ" означает "KRAS", связанный с ГТФ, и термины "pERK", "pAKT" и "pMEK" означают фосфорилированные "ERK", "AKT" и "MEK" соответственно. Показано, что комбинированное применение соединения 1 и соединения 2 обеспечивает уменьшение количества pERK и pMEK по сравнению со случаем применения только соединения 1 или соединения 2 в качестве единственного лекарственного средства, это указывает на то, что улучшено подавление передачи сигнала MAPK.

[Таблица 10]

| Первичные антитела | Номер по каталогу | Концентрация разведения | Температура проведения реакции | Продолжительность проведения реакции |
|---|----------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| Антитела к KRAS | Sigma, WH0003845M1 | 1/1000 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к фосфо-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) | Cell Signaling Technology, #9101 | 1/1000 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к p44/42 MAPK (Erk1/2) | Cell Signaling Technology, #9102 | 1/2000 | комнатная температура | 1 ч |
| Антитела к фосфо-Akt (Ser473) | Cell Signaling Technology, #4060 | 1/1000 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к Akt | Cell Signaling Technology, #9272 | 1/2000 | комнатная температура | 1 ч |
| Антитела к фосфо-MEK1/2 (Ser217/221) | Cell Signaling Technology, #9121 | 1/1000 | 4°C | в течение ночи |
| Антитела к MEK1/2 | Cell Signaling Technology, #9122 | 1/2000 | комнатная температура | 1 ч |

[Таблица 11]

| Вторичные антитела | Номер по каталогу | Концентрация разведения | Температура проведения реакции | Продолжительность проведения реакции |
|---|----------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| Антитела к IgG кролика, конъюгированные с HRP | Cell Signaling Technology, #7074 | 1/10000 | комнатная температура | 1 ч |
| Антитела к IgG мыши, | Cell Signaling Technology, #7076 | 1/10000 | комнатная температура | 1 ч |

| Вторичные антитела | Номер по каталогу | Концентрация разведения | Температура проведения реакции | Продолжительность проведения реакции |
|-----------------------|-------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| конъюгированные с HRP | | | | |

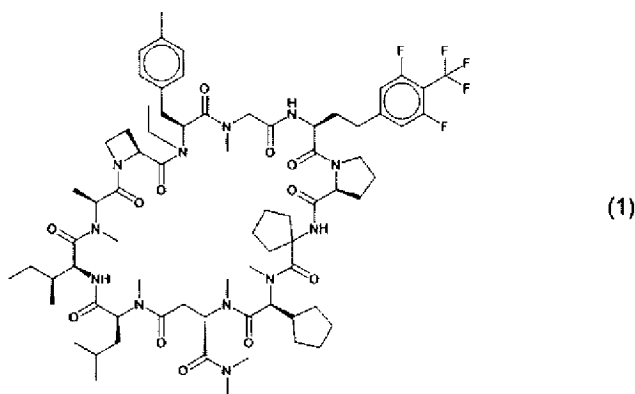
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где

первым активным ингредиентом является соединение, описываемое приведенной ниже формулой (1), или его соль, или его сольват, и вторым активным ингредиентом является молекулярно-направленное средство:

10

[Формула 1]

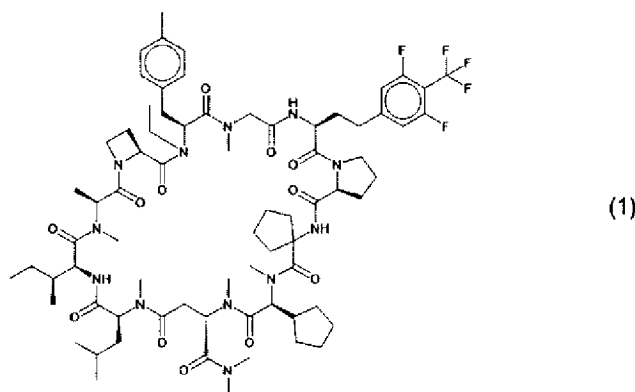


2. Лекарственное средство, предназначенное для лечения или предупреждения рака, лекарственное средство содержит первый активный ингредиент и его применяют в комбинации с вторым активным ингредиентом, где

15

первым активным ингредиентом является молекулярно-направленное средство, и вторым активным ингредиентом является соединение, описываемое приведенной ниже формулой (1), или его соль, или его сольват:

[Формула 2]



3. Лекарственное средство по п. 1 или 2, где первый активный ингредиент и
5 второй активный ингредиент предоставлены в виде набора.

4. Лекарственное средство по любому из п.п. 1-3, где комбинированным
применением первого активного ингредиента и второго активного ингредиента
является одновременное введение или раздельное введение.
10

5. Лекарственное средство по любому из п.п. 1-4, где первый активный
ингредиент и второй активный ингредиент применяют в комбинации в виде
комбинированного лекарственного средства.

15 6. Лекарственное средство по любому из п.п. 1-5, где молекулярно-
направленным средством является ингибитор пути MAPK/ERK.

7. Лекарственное средство по любому из п.п. 1-6, где молекулярно-
направленным средством является по меньшей мере одно, выбранное из группы,
20 состоящей из следующих: ингибитор EGFR, ингибитор VEGF, ингибитор SHP2,
ингибитор KRAS-G12C и ингибитор MEK.

8. Лекарственное средство по любому из п.п. 1-7, где молекулярно-
направленным средством является ингибитор EGFR, ингибитор VEGF,
25 ингибитор SHP2, ингибитор KRAS-G12C или ингибитор MEK.

9. Лекарственное средство по п. 7 или 8, где ингибитором EGFR является по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: gefitinib, erlotinib, afatinib, osimertinib, lapatinib или их соли, или их сольваты, и антитела к EGFR.

5

10. Лекарственное средство по любому из п.п. 7-9, где ингибитором EGFR являются антитела к EGFR.

10 11. Лекарственное средство по п. 9 или 10, где антитела к EGFR содержат переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

15 12. Лекарственное средство по любому из п.п. 9-11, где антителами к EGFR является cetuximab.

13. Лекарственное средство по любому из п.п. 7-12, где ингибитором VEGF являются антитела к VEGF.

20 14. Лекарственное средство по п. 13, где антитела к VEGF содержат переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.

25 15. Лекарственное средство по п. 13 или 14, где антителами к VEGF является bevacizumab.

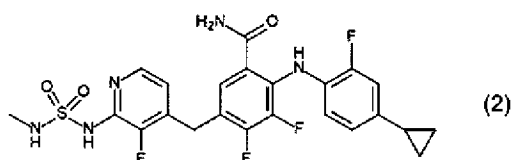
30 16. Лекарственное средство по любому из п.п. 7-15, где ингибитором SHP2 является по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: RMC4550, TNO155, RLY1971, SHP099, NSC-87877 и их соли, и их сольваты.

17. Лекарственное средство по любому из п.п. 7-16, где ингибитором SHP2 является по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: RMC4550, TNO155 и их соли, и их сольваты.

5 18. Лекарственное средство по любому из п.п. 7-17, где ингибитором KRAS-G12C является по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: соторасиб, MRTX849 и их соли, и их сольваты.

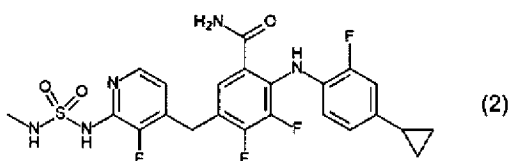
10 19. Лекарственное средство по любому из п.п. 7-18, где ингибитором MEK является по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: соединение, описываемое приведенной ниже формулой (2), траметиниб, селуметиниб, CH4987655 и их соли, и их сольваты:

[Формула 3]



15 20. Лекарственное средство по любому из п.п. 7-19, где ингибитором MEK является соединение, описываемое приведенной ниже формулой (2), траметиниб или их соли, или их сольваты:

[Формула 4]



20 21. Лекарственное средство по любому из п.п. 1-20, где соединением, описываемым формулой (1), или его солью, или его сольватом является сольват соединения, описываемого формулой (1).

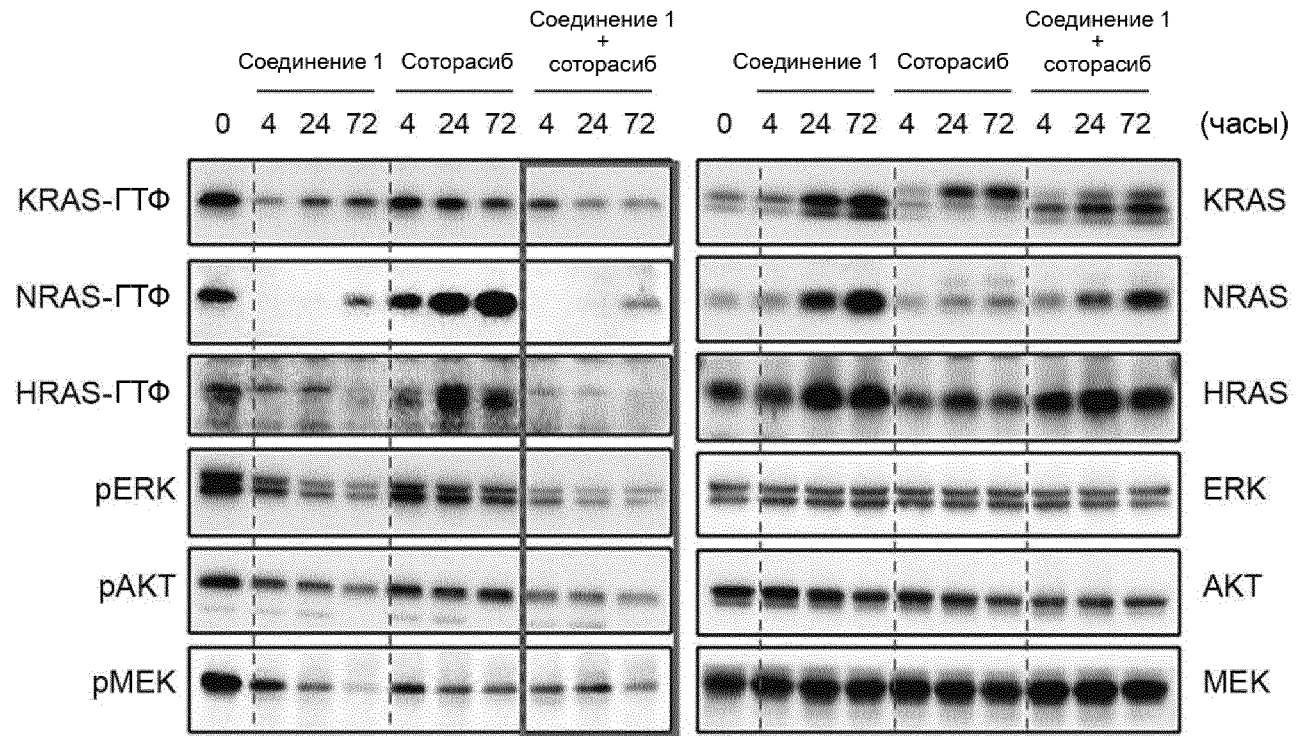
25 22. Лекарственное средство по п. 21, где сольватом является гидрат.

23. Лекарственное средство по любому из п.п. 1-20, где соединением, описываемым формулой (1), или его солью, или его сольватом является соединение, описываемое формулой (1).

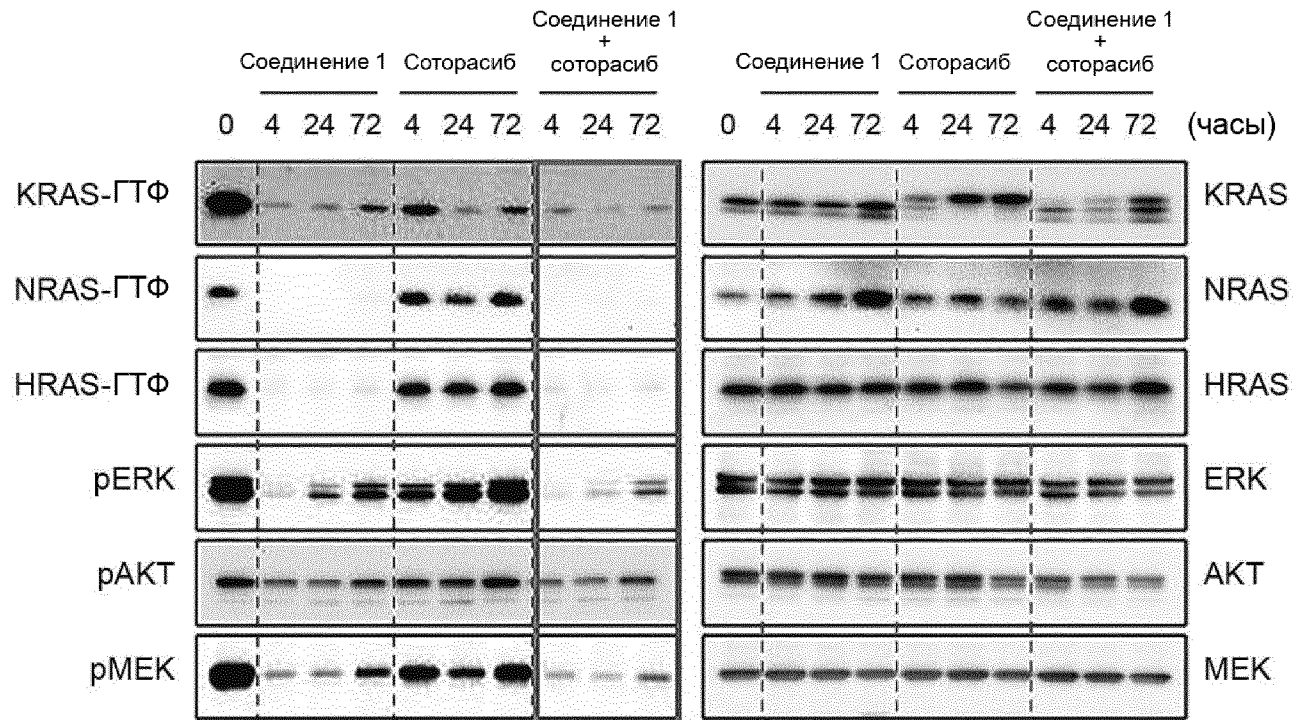
5 24. Лекарственное средство по любому из п.п. 1-23, где раком является солидный рак или рак крови.

10 25. Лекарственное средство по любому из п.п. 1-24, где раком является по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из следующих: рак легких, рак пищевода, рак желудка, колоректальный рак, рак матки, рак яичников, рак поджелудочной железы, рак мочевого пузыря, рак щитовидной железы, рак кожи, лейкоз, злокачественная лимфома и множественная миелома.

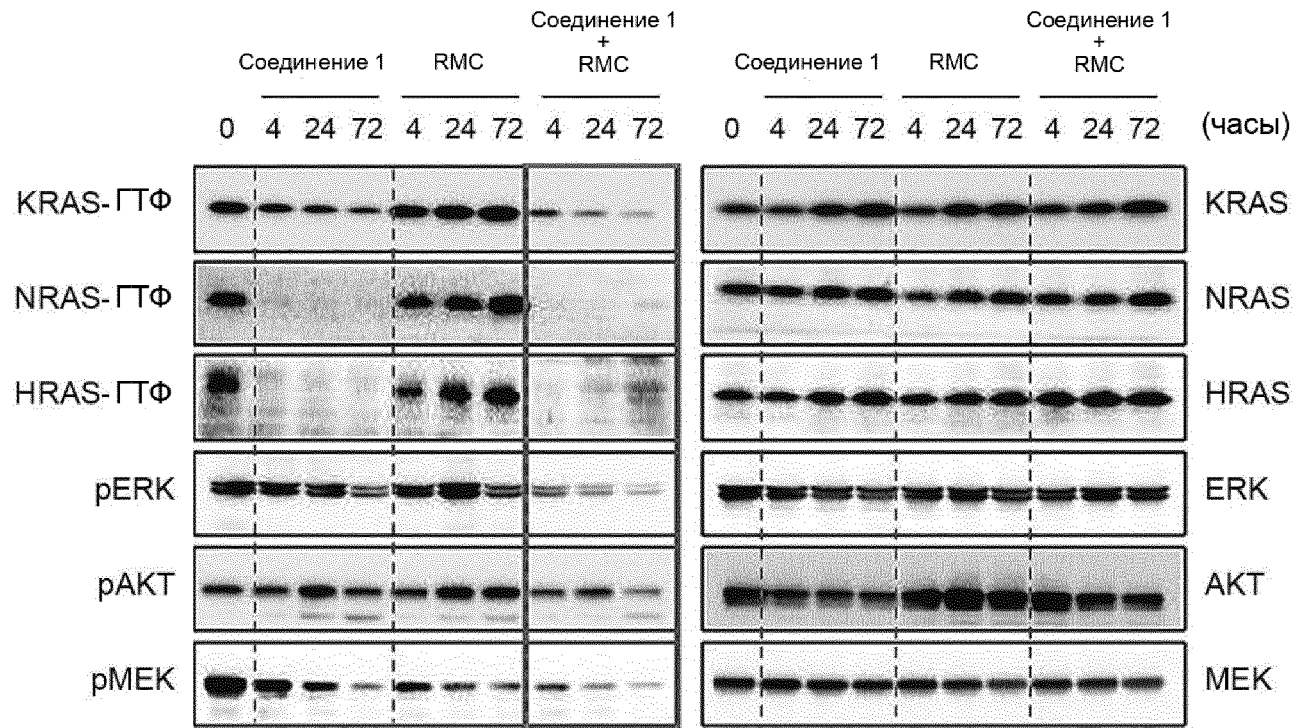
15 26. Лекарственное средство по любому из п.п. 1-25, где раком является рак, связанный с аномалией гена RAS или пути MAPK/ERK.



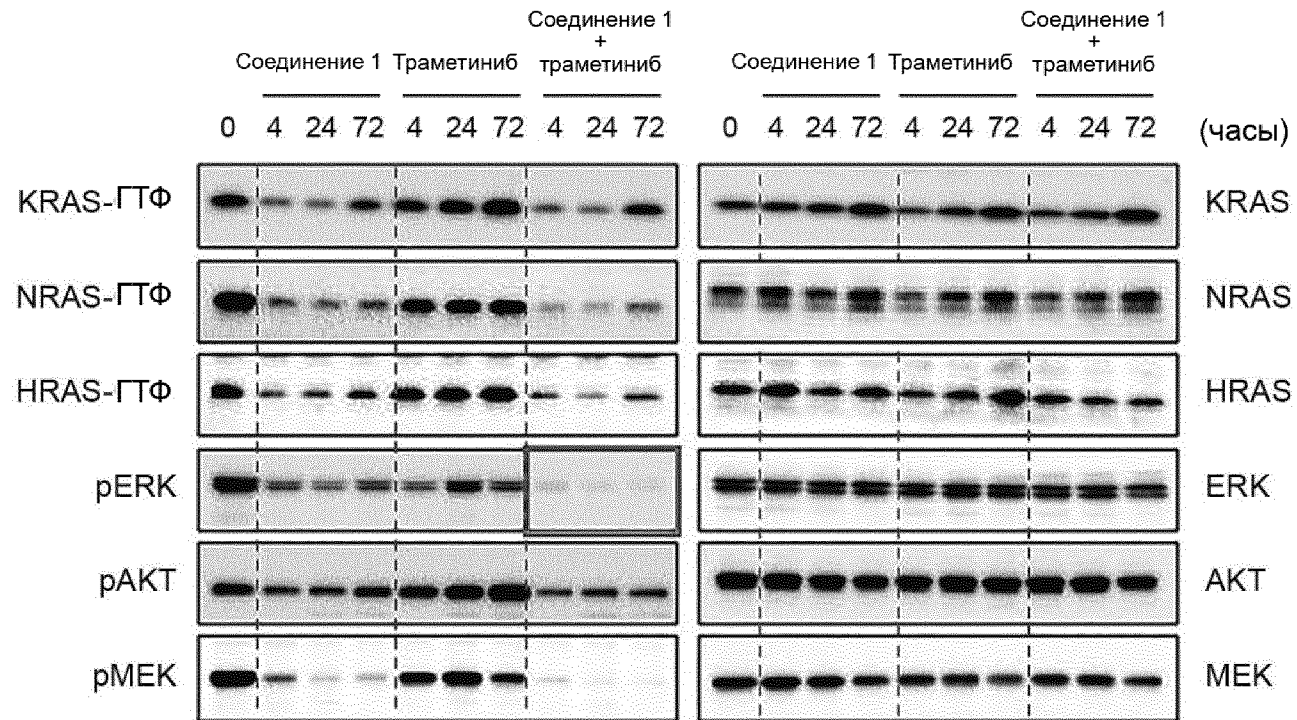
Фиг. 1



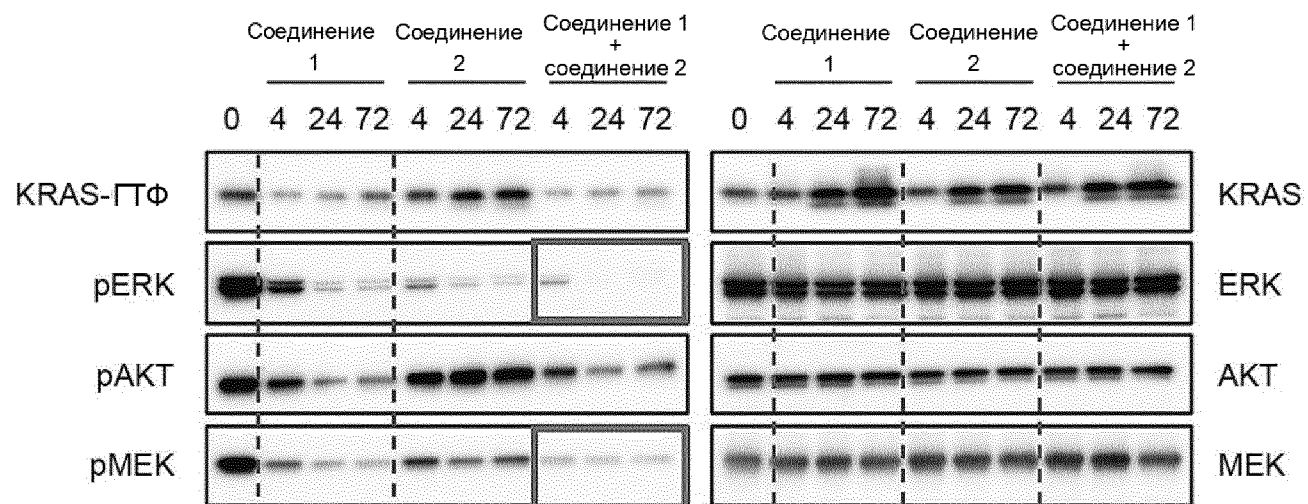
Фиг. 2



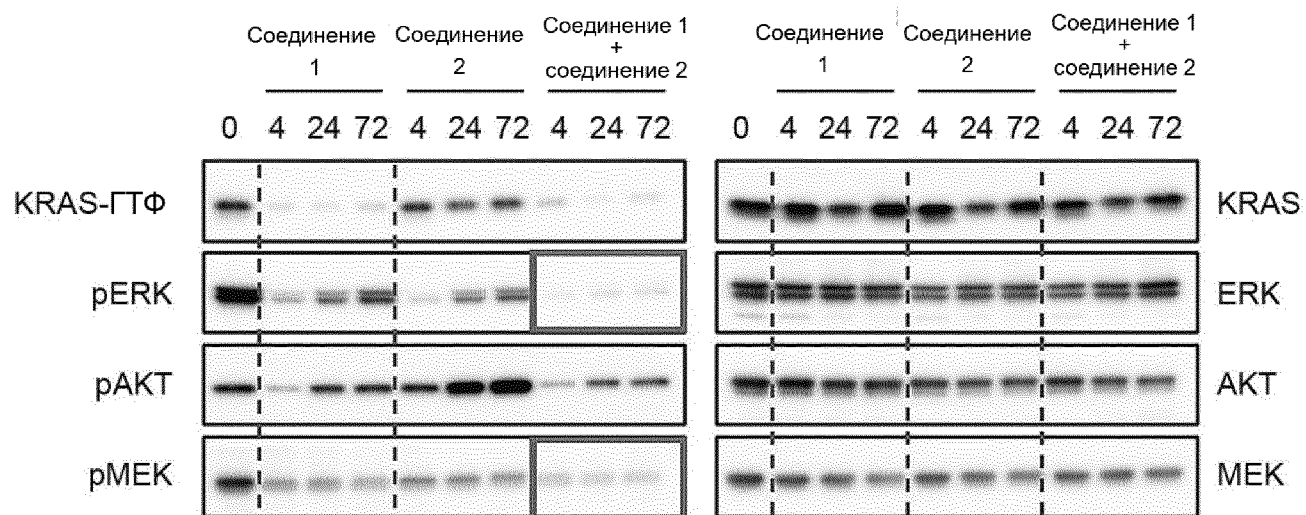
Фиг. 3



Фиг. 4

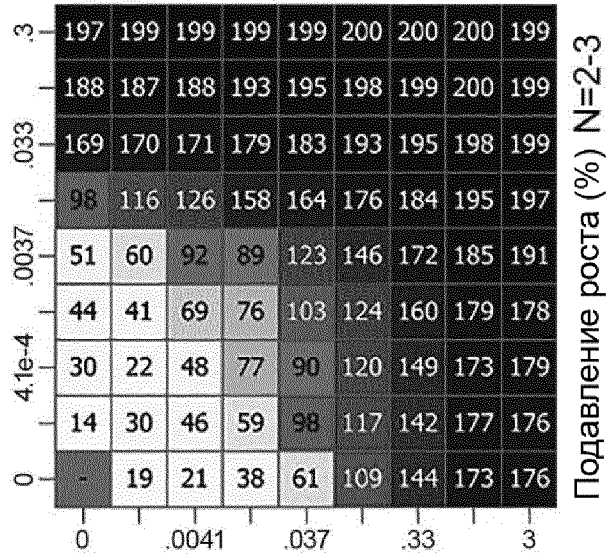


Фиг. 5

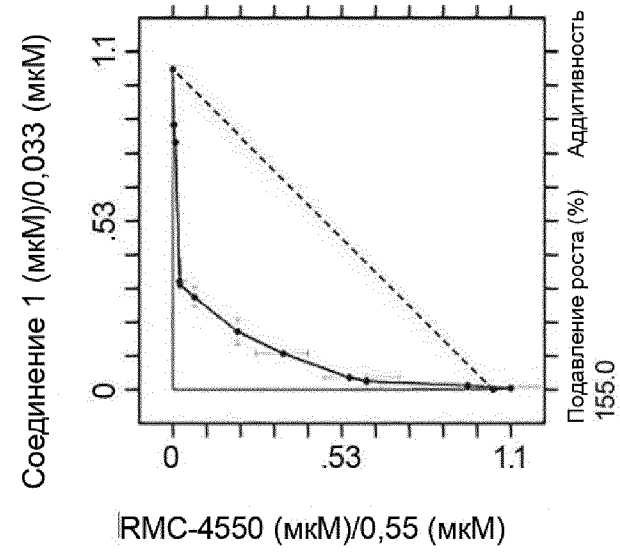


Фиг. 6

а NCI-H358 (рак легких)
KRAS-G12C

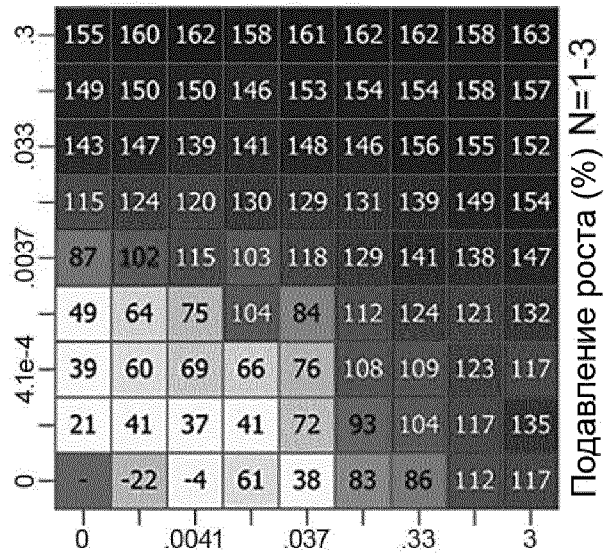


б

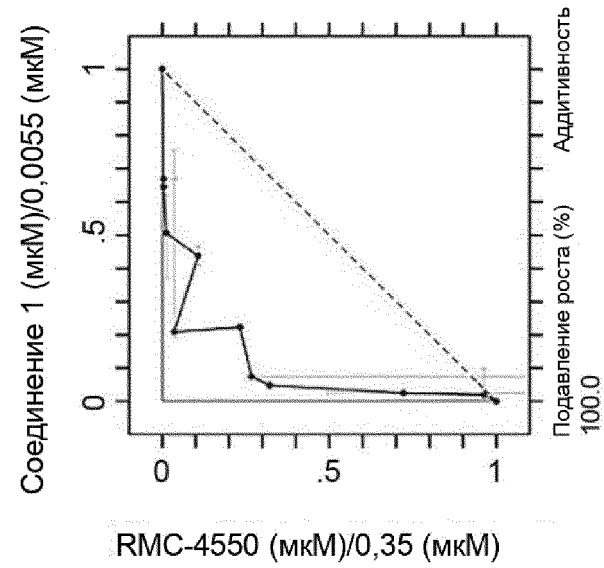


Фиг. 7

а NCI-H441 (рак легких)
KRAS-G12V

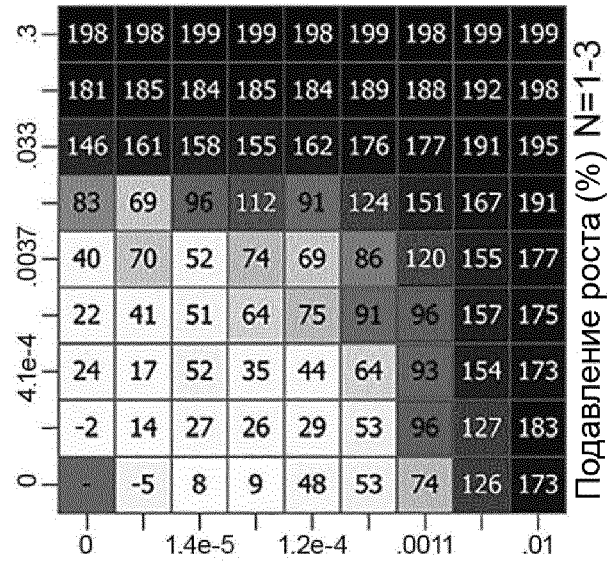


б

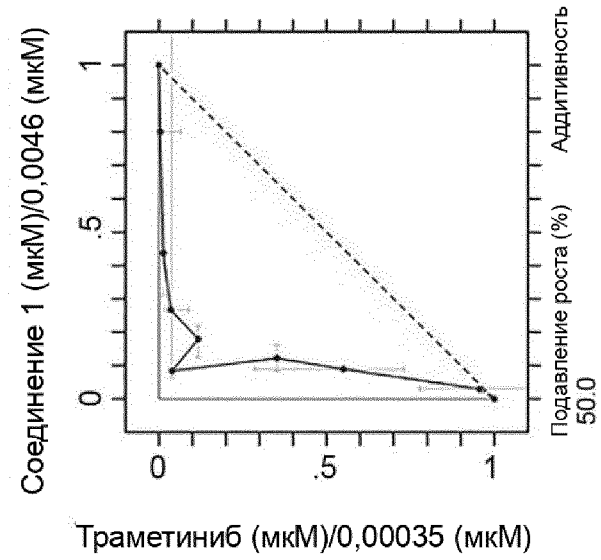


Фиг. 8

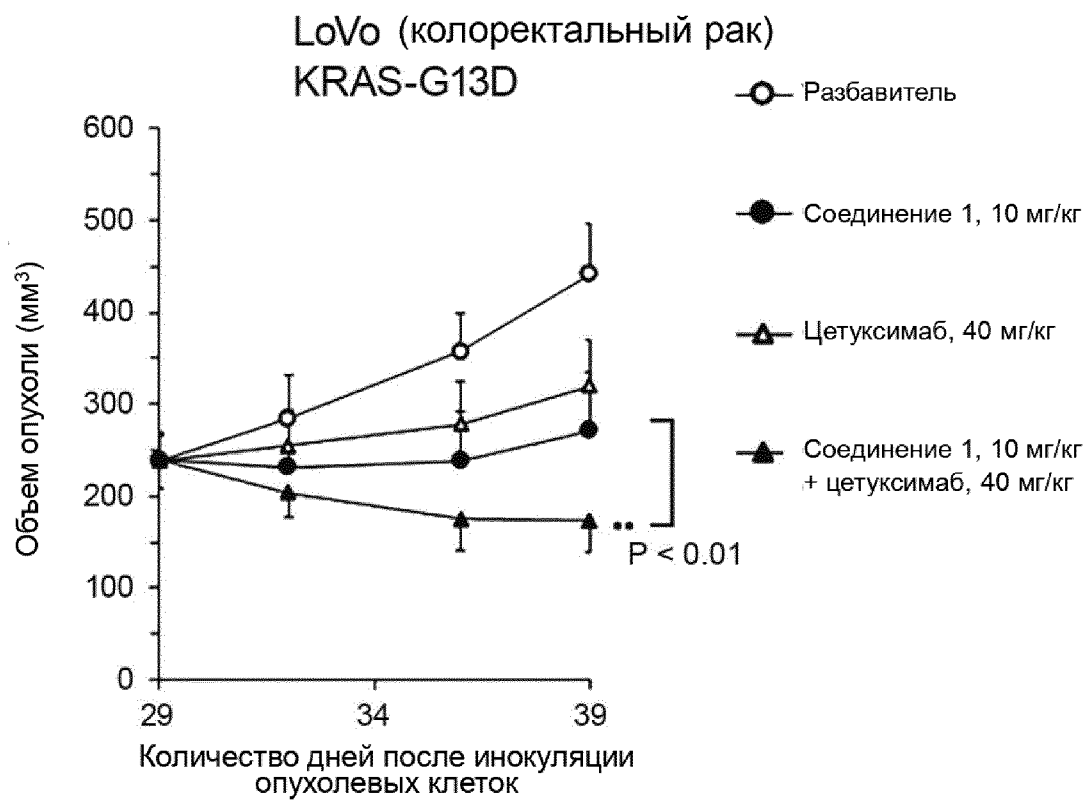
а NCI-H358 (рак легких)
KRAS-G12C



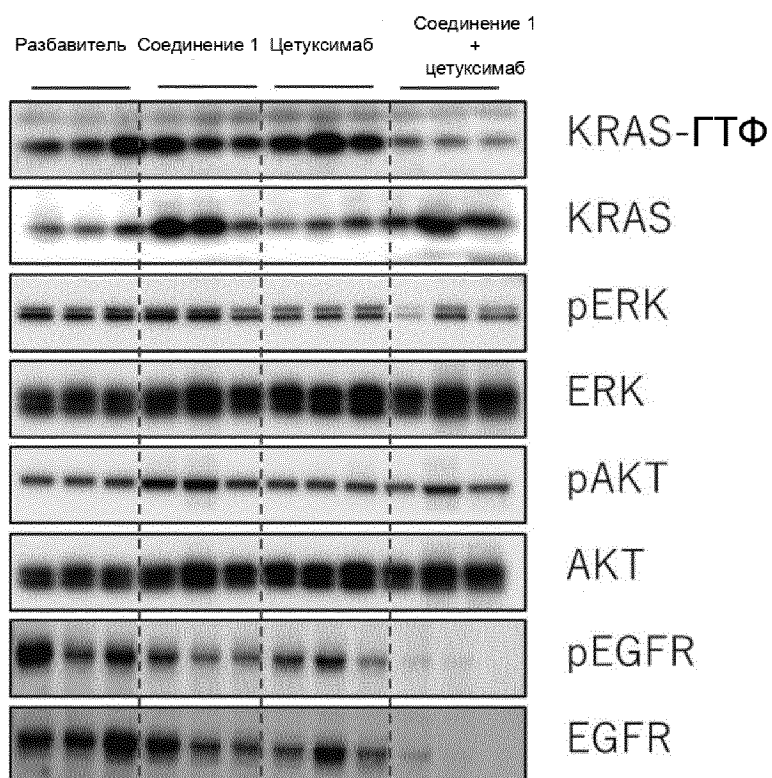
б



Фиг. 9

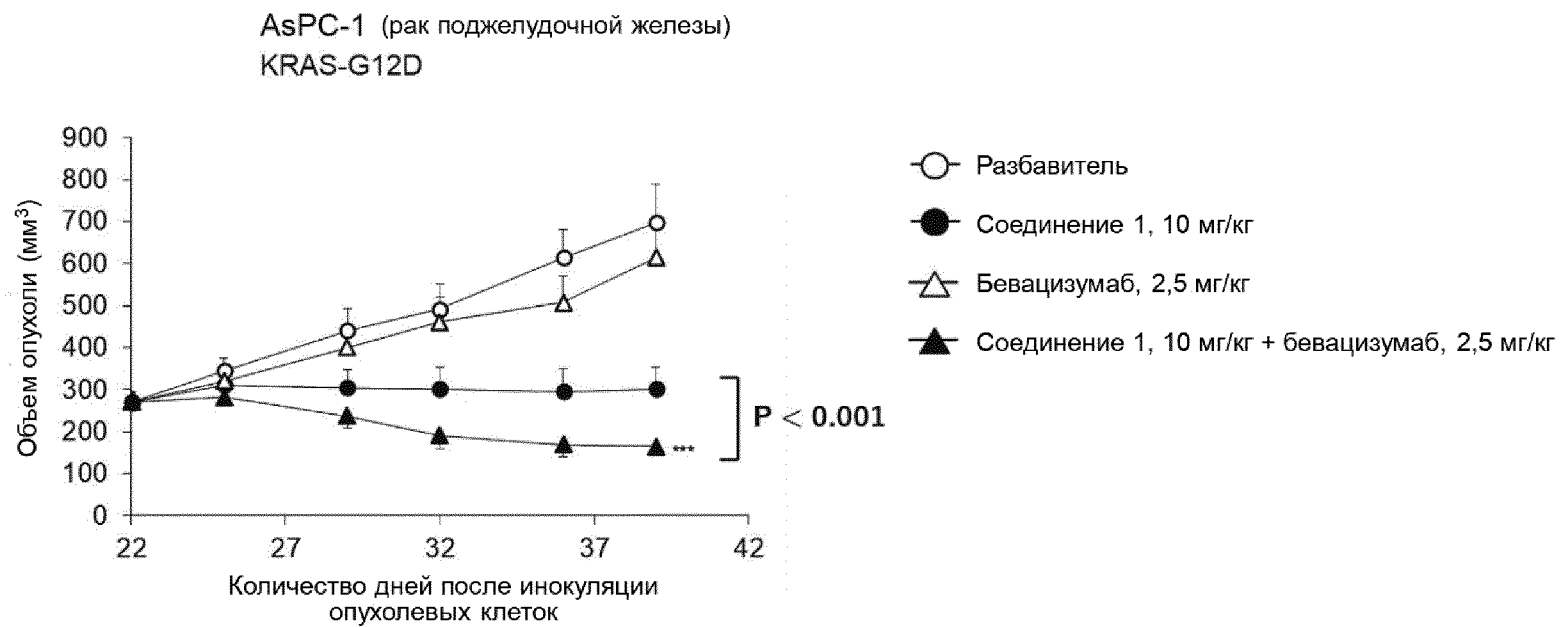


Фиг. 10

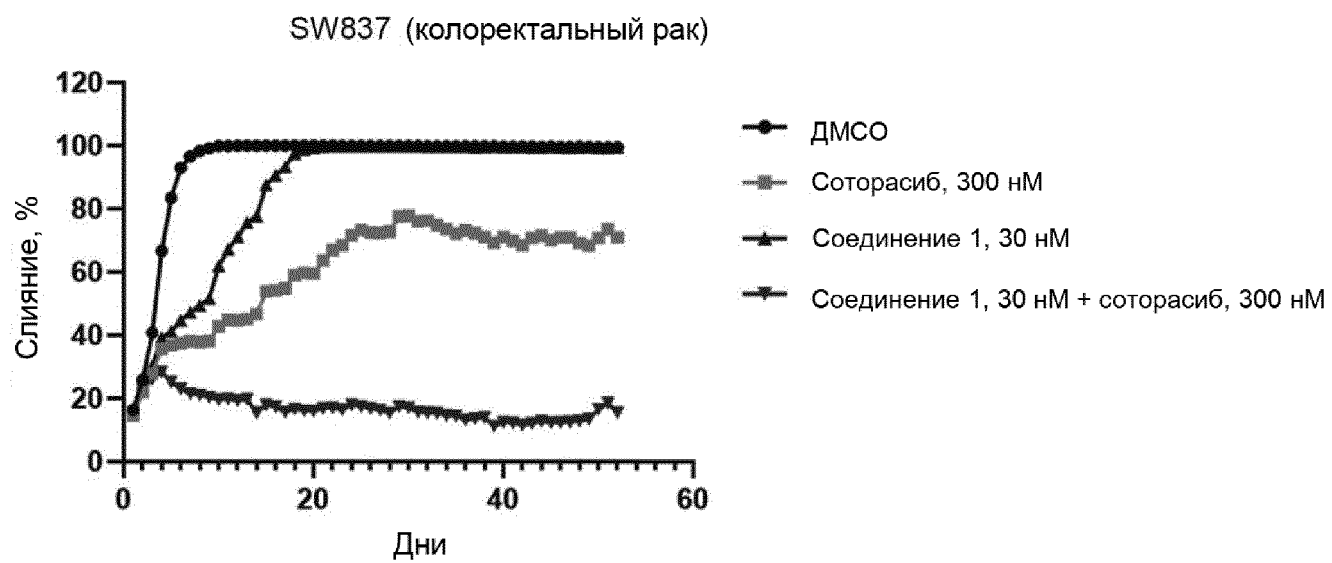


Средства повторно вводили в последний день проведения исследования и через 4 ч извлекали опухоли

Фиг. 11

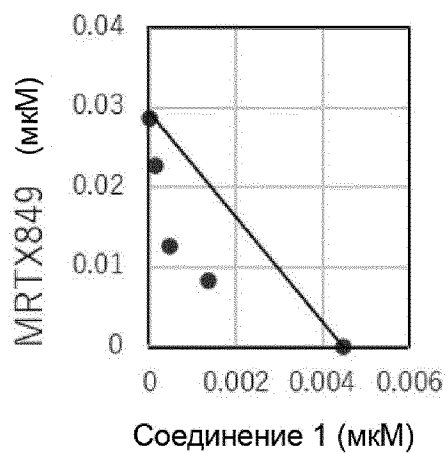


Фиг. 12

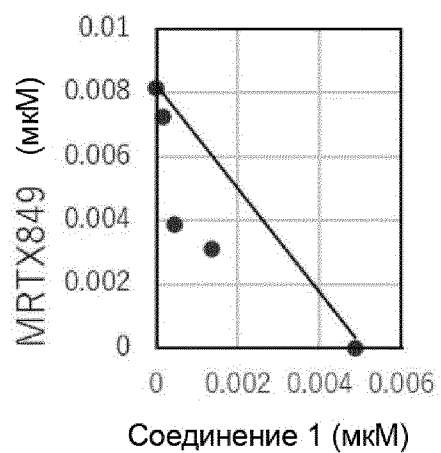


Фиг. 13

HCC-1171
(НМКРЛ, KRAS-G12C)

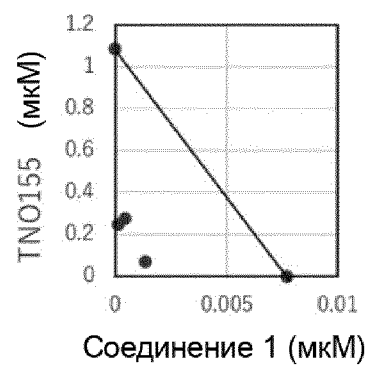


NCI-H1373
(НМКРЛ, KRAS-G12C)

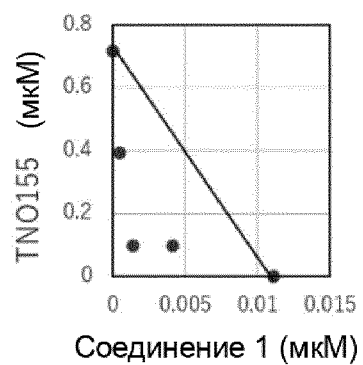


Фиг. 14

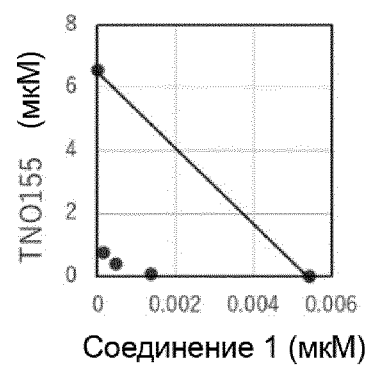
HCC-1171
(НМКРЛ, KRAS-G12C)



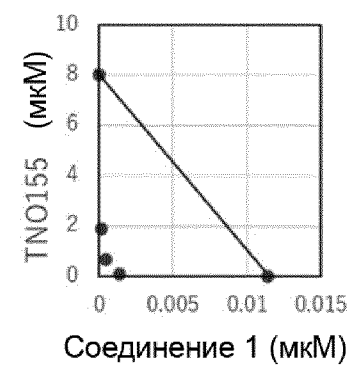
NCI-H23
(НМКРЛ, KRAS-G12C)



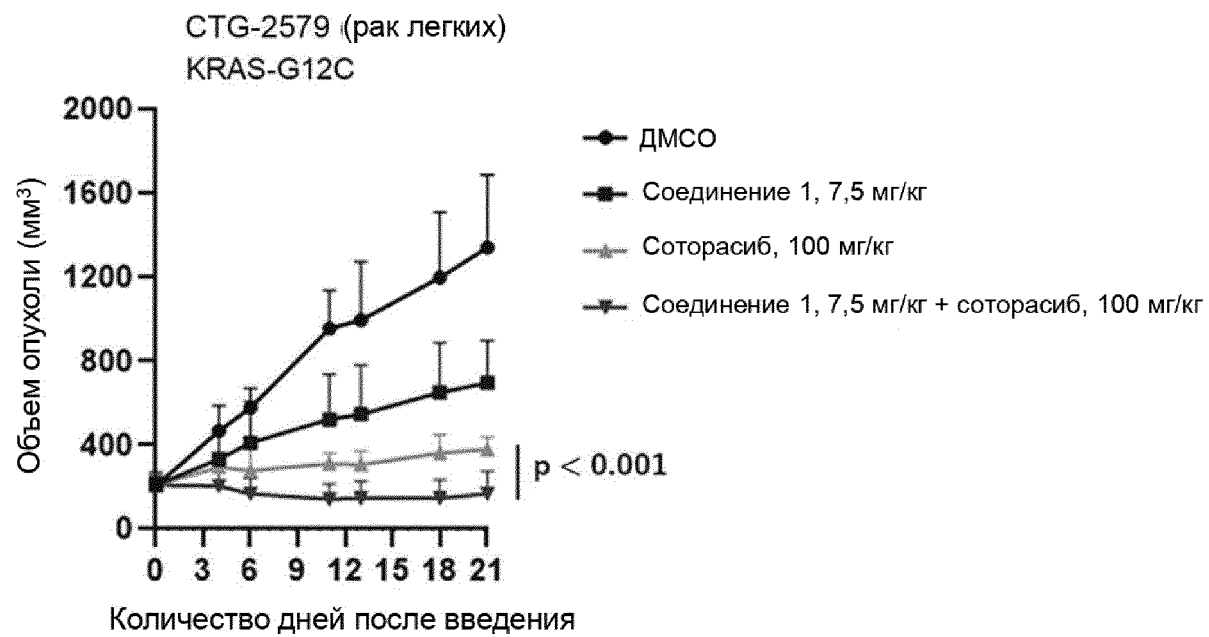
NCI-H1373
(НМКРЛ, KRAS-G12C)



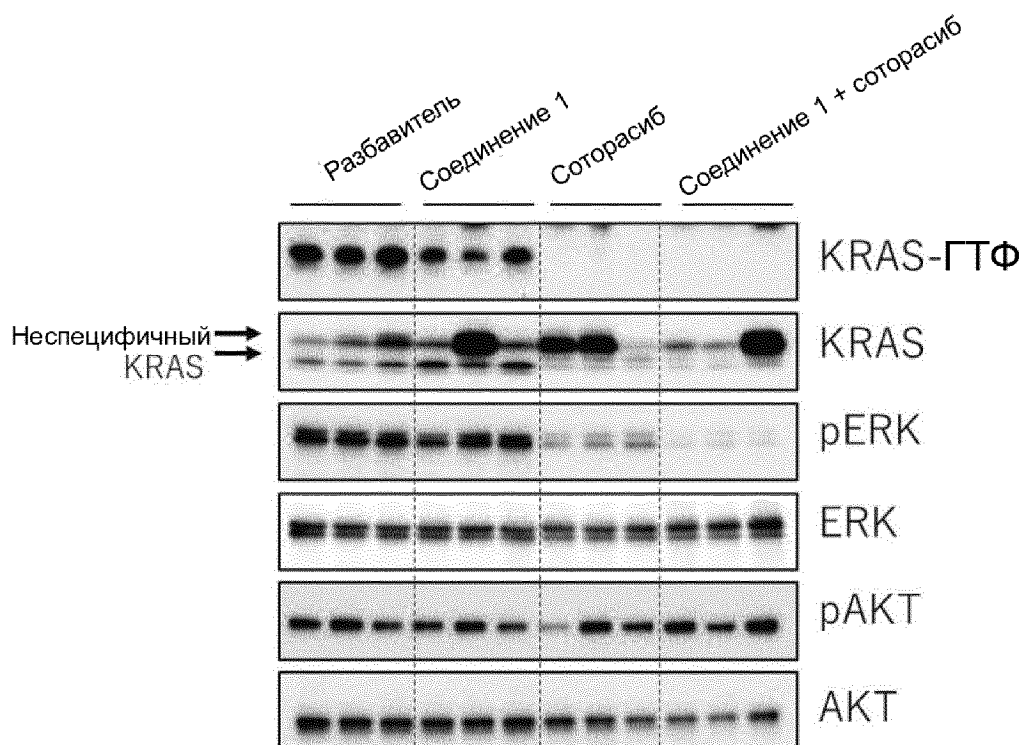
UM-UC-3
(рак мочевого пузыря, KRAS-G12C)



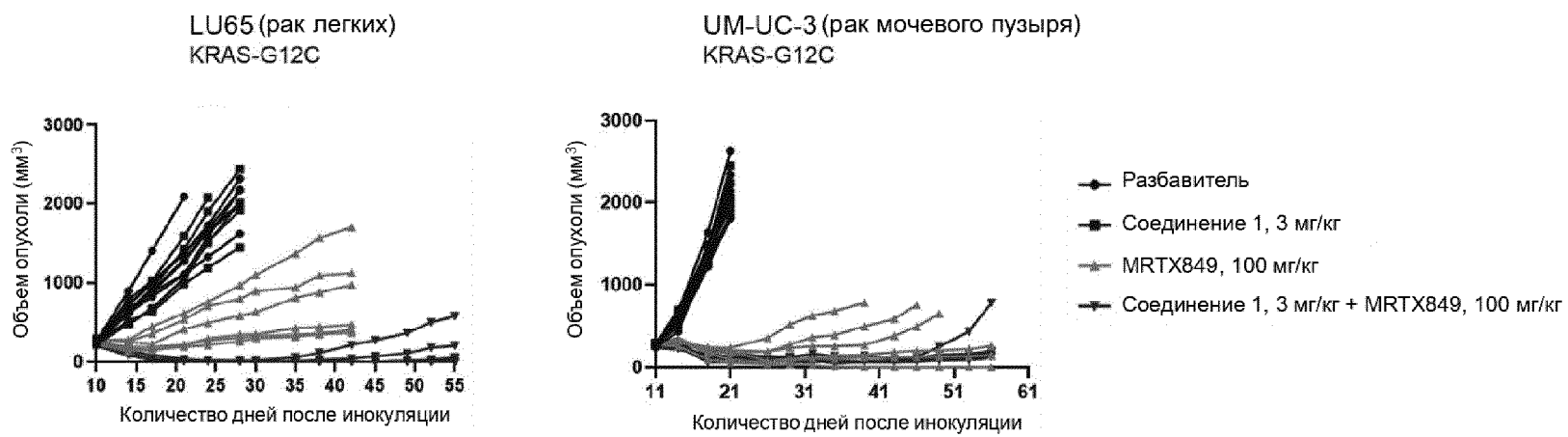
Фиг. 15



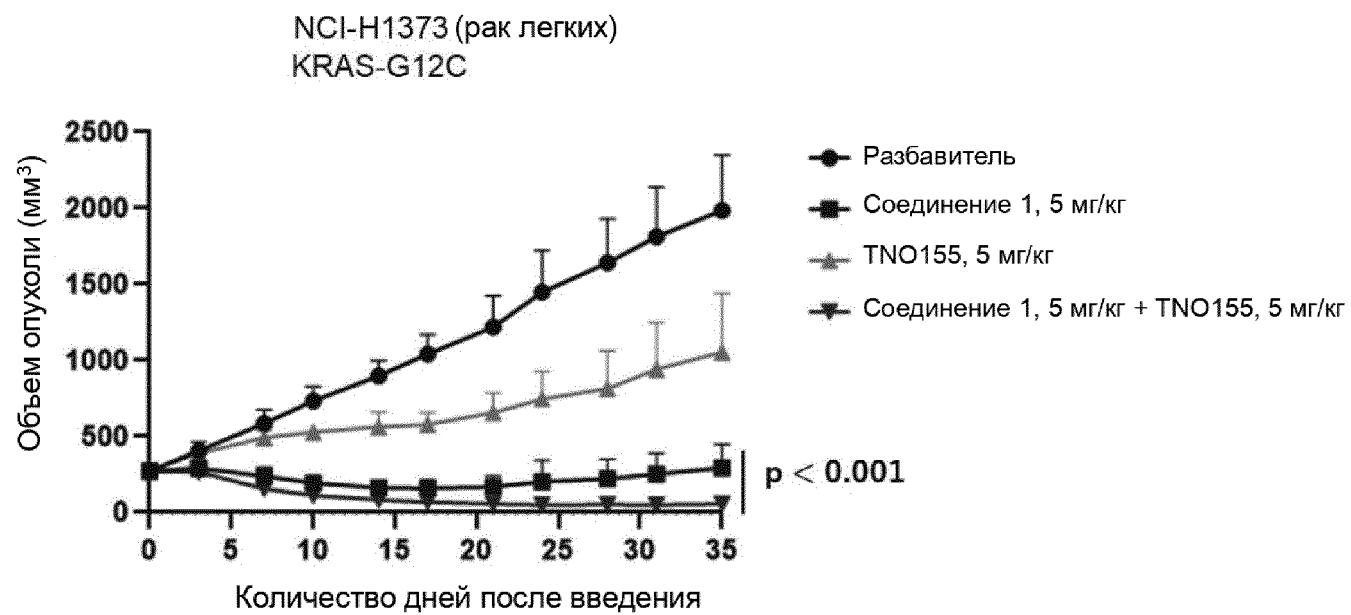
Фиг. 16



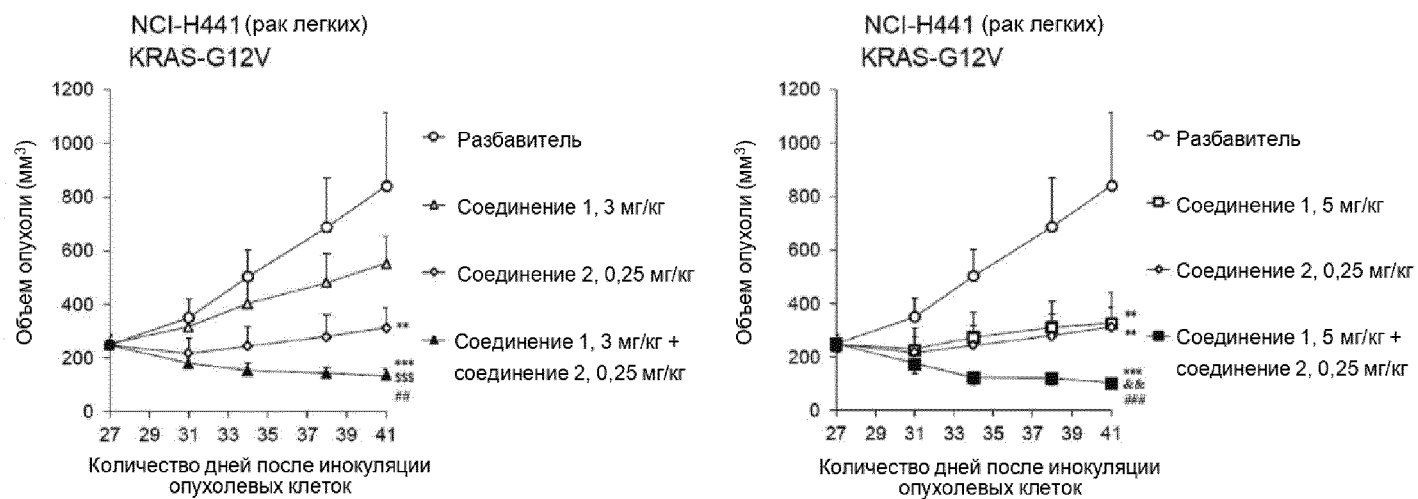
Фиг. 17



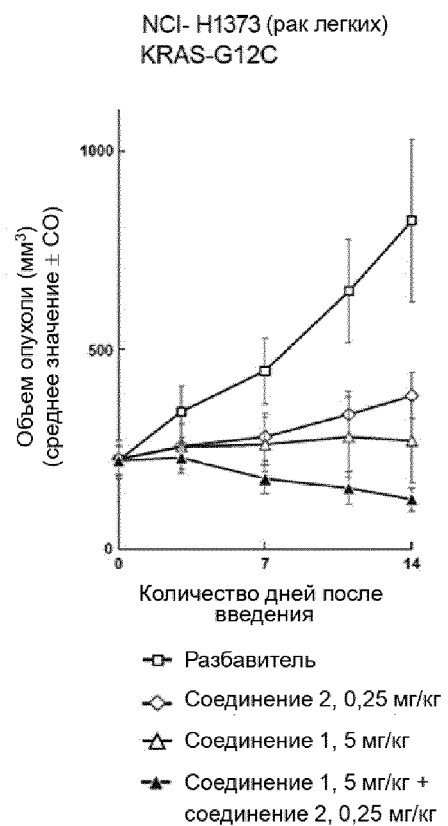
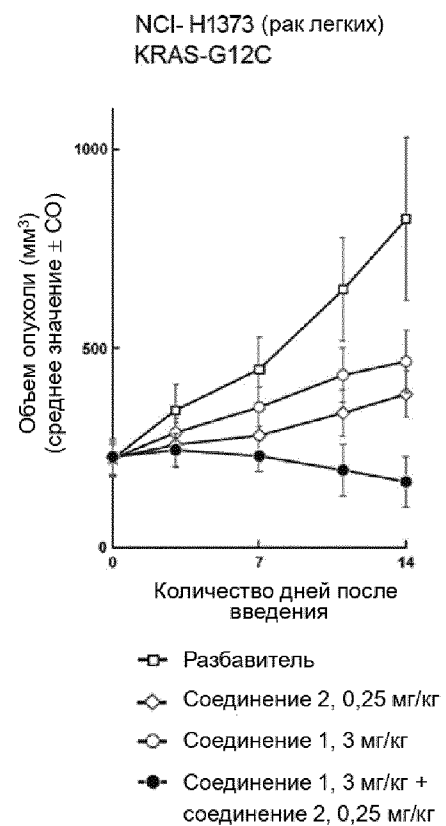
Фиг. 18



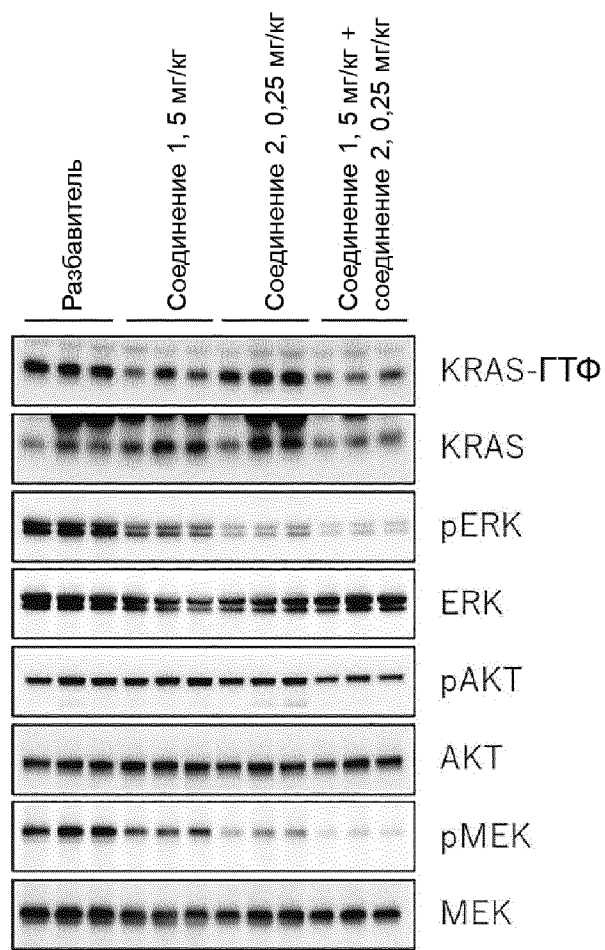
Фиг. 19



Фиг. 20



Фиг. 21



Фиг. 22