

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

(45) Дата публикации и выдачи патента
2017.10.31

(21) Номер заявки
201491701

(22) Дата подачи заявки
2013.03.14

(51) Int. Cl. **A61K 31/4985** (2006.01)
A61K 35/00 (2006.01)

(54) **ЛЕЧЕНИЕ РАКА ИНГИБИТОРАМИ TOR КИНАЗЫ**

(31) **61/611,428; 61/715,327**

(32) **2012.03.15; 2012.10.18**

(33) **US**

(43) **2015.01.30**

(86) **PCT/US2013/031217**

(87) **WO 2013/138560 2013.09.19**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**СИГНАЛ ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ЭлЭлСи (US)**

(72) Изобретатель:
**Сюй Шуйчань, Хедж Кристен Мей,
Рэймон Хитер, Цудзи Тосия, Сапиносо
Лиза (US)**

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

(56) **WO-A1-2010062571
WO-A1-2008051494
WO-A2-2008051493
WO-A1-2010044893**

SCHAYOWITZ A. ET AL.: "Prolonging hormone sensitivity in prostate cancer xenografts through dual inhibition of AR and mTOR", BRITISH JOURNAL OF CANCER, vol. 103, no. 7, September 2010 (2010-09), pages 1001-1007, XP002696900, abstract

EMMANUEL S. ANTONARAKIS ET AL.: "Novel targeted therapeutics for metastatic castration-resistant prostate cancer", CANCER LETTERS, vol. 291, no. 1, 1 May 2010 (2010-05-01), pages 1-13, XP055062463, ISSN: 0304-3835, DOI: 10.1016/j.canlet.2009.08.012, abstract, page 3

SCHIEWER MATTHEW J. ET AL.: "mTOR is a selective effector of the radiation therapy

response in androgen receptor-positive prostate cancer", ENDOCRINE-RELATED CANCER, vol. 19, no. 1, February 2012 (2012-02), pages 1-12, XP002696901, abstract

H. WANG ET AL.: "CCI-779 Inhibits Cell-Cycle G2-M Progression and Invasion of Castration-Resistant Prostate Cancer via Attenuation of UBE2C Transcription and mRNA Stability", CANCER RESEARCH, vol. 71, no. 14, 15 July 2011 (2011-07-15), pages 4866-4876, XP055062470, ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4576, abstract

MORGAN TODD M. ET AL.: "Targeted therapy for advanced prostate cancer: inhibition of the PI3K/Akt/mTOR pathway.", NIH Public Access Author Manuscript, March 2009 (2009-03), pages 1-24, XP002696902, retrieved from the Internet: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2921605/pdf/nihms-224512.pdf>, [retrieved on 2013-05-14], published in final form as: Curr. Cancer Drug Targets. 2009 March; 9(2): 237-249, abstract

A.M. SMITH ET AL.: "ETS1 transcriptional activity is increased in advanced prostate cancer and promotes the castrate-resistant phenotype", CARCINOGENESIS, vol. 33, no. 3, 1 March 2012 (2012-03-01), pages 572-580, XP055061467, ISSN: 0143-3334, DOI: 10.1093/carcin/bgs007, abstract

LORI BERK ET AL.: "Analysis of the pharmacodynamic activity of the mTOR inhibitor ridaforolimus (AP23573, MK-8669) in a phase 1 clinical trial", CANCER CHEMOTHERAPY AND PHARMACOLOGY, vol. 69, no. 5, 10 January 2012 (2012-01-10), pages 1369-1377, XP035047366, SPRINGER, BERLIN, DE ISSN: 1432-0843, DOI: 10.1007/S00280-011-1813-7, abstract

(57) В настоящем документе представлены способы лечения кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR киназы, представляющего собой 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-он или его фармацевтически приемлемую соль, стереоизомер или таутомер, пациенту с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS.

Область техники, к которой относится изобретение

В настоящем документе представлены способы лечения или профилактики кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR киназы пациенту с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS.

Предпосылки создания изобретения

Связь между аномальным фосфорилированием белка и причиной или последствием заболеваний известна в течение более 20 лет. Соответственно, протеинкиназы стали очень важной группой мишеней для лекарств (см. Cohen, *Nature*, 1:309-315 (2002)). Различные ингибиторы протеинкиназ используют в клинике для лечения широкого ряда заболеваний, таких как рак и хронические воспалительные заболевания, включая сахарный диабет и инсульт (см. Cohen, *Eur. J. Biochem.*, 268:5001-5010 (2001), *Protein Kinase Inhibitors for the Treatment of Disease: The Promise and the Problems*, Handbook of Experimental Pharmacology, Springer Berlin Heidelberg, 167 (2005)).

Протеинкиназы представляют собой большое и многообразное семейство ферментов, которые катализируют фосфорилирование белков и играют ключевую роль в передаче сигнала клетками. Протеинкиназы могут проявлять позитивные или негативные регуляторные эффекты в зависимости от их белка-мишени. Протеинкиназы участвуют в специфических путях передачи сигнала, которые регулируют функции клеток, такие как, без ограничения, метаболизм, последовательность клеточного цикла, адгезия клеток, васкулярная функция, апоптоз и ангиогенез. Нарушения функции передачи сигнала клетками были ассоциированы со многими заболеваниями, наиболее охарактеризованные из которых включают рак и сахарный диабет. Регулирование передачи сигналов посредством цитокинов и ассоциация сигнальных молекул с протоонкогенами и генами-супрессорами опухолей убедительно подтверждены документальными доказательствами. Подобным же образом была продемонстрирована связь между сахарным диабетом и сопутствующими состояниями и дерегулированными уровнями протеинкиназ (см., например, Sridhar et al. *Pharmaceutical Research*, 17 (11):1345-1353 (2000)). Вирусные инфекции и связанные с ними состояния также были ассоциированы с регулированием протеинкиназ (Park et al. *Cell* 101 (7):777-787 (2000)).

Поскольку протеинкиназы регулируют почти каждый клеточный процесс, включая метаболизм, пролиферацию клеток, дифференцировку клеток и выживание клетки, они являются привлекательными мишенями для терапевтического воздействия при различных болезненных состояниях. Например, регуляция клеточного цикла и ангиогенез, в которых протеинкиназы играют определяющую роль, представляют собой клеточные процессы, ассоциированные со множеством болезненных состояний, таких как, без ограничения, рак, воспалительные заболевания, аномальный ангиогенез и связанные с ним заболевания, атеросклероз, макулярная дегенерация, сахарный диабет, ожирение и боль.

Протеинкиназы стали привлекательными мишенями при лечении рака (Fabbro et al., *Pharmacology & Therapeutics* 93:79-98 (2002)). Было высказано предположение, что вовлечение протеинкиназ в развитие у человека злокачественных опухолей может осуществляться посредством: (1) геномных перестроек (например, BCR-ABL при хроническом миелогенном лейкозе), (2) мутаций, приводящих к постоянно активной функции киназ, как, например, при остром миелогенном лейкозе и опухолях желудочно-кишечного тракта, (3) дерегуляции функции киназ путем активации онкогенов или утраты супрессирующих опухоль функций, как, например, при раке с онкогенным RAS, (4) дерегуляции функции киназ путем сверхэкспрессии, как в случае EGFR, и (5) эктопической экспрессии факторов роста, которые могут вносить вклад в развитие и сохранение неопластического фенотипа (Fabbro et al., *Pharmacology & Therapeutics* 93:79-98 (2002)).

Раскрытие запутанности протеинкиназных путей и сложность взаимоотношений и взаимодействий между различными протеинкиназами и протеинкиназными путями подчеркивает важность разработки фармацевтических средств, способных действовать в качестве модуляторов, регуляторов или ингибиторов протеинкиназ, которые оказывают благоприятное воздействие на множество киназ или множество протеинкиназных путей. Соответственно, остается потребность в новых модуляторах киназ.

Белок, называемый mTOR (мишень рапамицина в клетках млекопитающих), который также называют FRAP, RAFT1 или RAPT1, представляет собой состоящую из 2549 аминокислот Ser/Thr-протеинкиназу, которая, как было показано, является одним из наиболее значимых белков в пути передачи сигнала mTOR/PI3K/Akt, который регулирует рост и пролиферацию клетки (Georgakis and Younes *Expert Rev. Anticancer Ther.* 6(1):131-140 (2006)). mTOR существует в виде двух комплексов, mTORC1 и mTORC2. Хотя mTORC1 чувствителен к аналогам рапамицина (таким как темсиролимул или эверолимул), mTORC2 преимущественно нечувствителен к рапамицину. Примечательно, что рапамицин не является ингибитором TOR киназы. В отношении нескольких ингибиторов mTOR проводились или проводятся клинические испытания на предмет лечения рака. Темсиролимул был одобрен в 2007 году для применения при почечно-клеточной карциноме, и сиролимул был одобрен в 1999 году для профилактики отторжения почечного трансплантата. Эверолимул был одобрен в 2009 году для пациентов с почечно-клеточной карциномой, состояние которых улучшалось на ингибиторах рецептора фактора роста эндотелия сосудов, в 2010 году для субэпендимальной гигантоклеточной астроцитомы (SEGA), ассоциирован-

ной с туберозным склерозом (TS), у пациентов, нуждающихся в терапии, но не являющихся кандидатами для хирургической резекции, и в 2011 году для прогрессирующих нейроэндокринных опухолей панкреатического происхождения (PNET) у пациентов с неоперабельным, местно распространенным или метастатическим заболеванием. Остается потребность в дополнительных ингибиторах TOR киназы.

Цитирование какой-либо ссылки или указание на какую-либо ссылку в разделе 2 настоящей заявки не следует истолковывать как признание факта, что ссылка представляет собой известный уровень техники применительно к настоящей заявке.

Краткое описание изобретения

В настоящем документе представлены способы лечения или профилактики кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR киназы пациенту с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS.

Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе представлены способы улучшения у пациента критериев, разработанных 2-й рабочей группой по простатоспецифическому антигену для рака предстательной железы, включающие введение эффективного количества ингибитора TOR киназы пациенту с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор TOR киназы представляет собой соединение, описанное в настоящем документе.

Варианты осуществления настоящего изобретения станут понятны более полно с учетом подробного описания и примеров, которые предназначены для пояснения неограничивающих вариантов осуществления.

Подробное описание изобретения

Определения

Используемый в настоящем описании термин "фармацевтически приемлемая(ые) соль(и)" относится к соли, полученной из фармацевтически приемлемой нетоксичной кислоты или основания, включая неорганическую кислоту и основание и органическую кислоту и основание. Подходящие фармацевтически приемлемые основно-аддитивные соли ингибиторов TOR киназы включают без ограничения соли металлов, полученные из алюминия, кальция, лития, магния, калия, натрия и цинка, или органические соли, полученные из лизина, N,N'-дибензилэтилендиамин, хлорпрокаина, холина, диэтанолamina, этилендиамин, меглюмина (N-метилглюкамина) и прокаина. Подходящие нетоксичные кислоты включают без ограничения неорганические и органические кислоты, такие как уксусная, альгиновая, антралиловая, бензолсульфоновая, бензойная, камфорсульфоновая, лимонная, этенсульфоновая, муравьиная, фумаровая, фуранкарбоновая, галактуриновая, глюконовая, глюкуроновая, глутаминовая, гликолевая, бромистоводородная, соляная, изетионовая, молочная, малеиновая, яблочная, миндальная, метансульфоновая, муциновая, азотная, памовая, пантотеновая, фенилуксусная, фосфорная, пропионовая, салициловая, стеариновая, янтарная, сульфаниловая, серная, виннокаменная кислота и пара-толуолсульфоновая кислота. Конкретные нетоксичные кислоты включают соляную, бромистоводородную, фосфорную, серную и метансульфовую кислоты. Таким образом, примеры конкретных солей включают гидрохлориды и мезилаты. Другие соли хорошо известны из области техники (см., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th eds., Mack Publishing, Easton PA (1990) или Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th eds., Mack Publishing, Easton PA (1995).

Если не указано иное, то используемый в настоящем документе термин "стереоизомер" или "стереомерно чистый" означает один стереоизомер ингибитора TOR киназы, который, по существу, не содержит других стереоизомеров этого соединения. Например, стереомерно чистое соединение, содержащее один хиральный центр, по существу, не будет содержать противоположный энантиомер соединения. Стереомерно чистое соединение с двумя хиральными центрами, по существу, не будет содержать других диастереомеров соединения. Типичное стереомерно чистое соединение содержит приблизительно более чем 80 мас.% одного стереоизомера соединения и приблизительно менее чем 20 мас.% других стереоизомеров соединения, приблизительно более чем 90 мас.% одного стереоизомера соединения и приблизительно менее чем 10 мас.% других стереоизомеров соединения, приблизительно более чем 95 мас.% одного стереоизомера соединения и приблизительно менее чем 5 мас.% других стереоизомеров соединения, или приблизительно более чем 97 мас.% одного стереоизомера соединения и приблизительно менее чем 3 мас.% других стереоизомеров соединения. Ингибиторы TOR киназы могут содержать хиральные центры и могут существовать в виде рацематов, отдельных энантиомеров или диастереомеров и их смесей. Все такие изомерные формы, включая их смеси, включены в раскрытые в настоящем документе варианты осуществления. Использование стереохимически чистых форм таких ингибиторов TOR киназы, а также использование смесей этих форм охватываются раскрытыми в настоящем документе вариантами осуществления. Например, смеси, содержащие равные или неравные количества энантиомеров конкретного ингибитора TOR киназы, могут быть использованы в раскрытых в настоящем документе способах и композициях. Эти изомеры могут быть асимметрически синтезированы или расщеплены с использованием стандартных методик, таких как хиральные колонки или хиральные расщепляющие агенты (см., на-

пример, Jacques J. et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley-Interscience, New York, 1981); Wilen S.H. et al. *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel E.L. *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw-Hill, NY, 1962); и Wilen S.H. *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p. 268 (E.L.Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972)).

Также следует отметить, что ингибиторы TOR киназы могут содержать E и Z изомеры или их смеси, и цис- и транс-изомеры или их смеси. Согласно определенным вариантам осуществления ингибиторы TOR киназы выделены или в виде цис- или транс-изомера. Согласно другим вариантам осуществления ингибиторы TOR киназы представляют собой смеси цис- и транс-изомеров.

"Таутомеры" относятся к изомерным формам соединения, которые находятся в равновесии друг с другом. Концентрации изомерных форм будут зависеть от окружающей среды, в которой обнаружено соединение, и могут отличаться в зависимости, например, от того, будет ли соединение твердым или будет находиться в органическом или водном растворе.

Как совершенно очевидно специалисту в данной области техники, широкий ряд функциональных групп и других структур могут проявлять таутомерию, и все таутомеры ингибиторов TOR киназы подпадают под объем настоящего изобретения.

Используемый в настоящем документе термин "лечение" означает облегчение, полностью или частично, кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS или его симптома или замедление или остановку дальнейшего прогрессирования или ухудшения кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS.

Используемый в настоящем документе термин "профилактика" означает предотвращение начала, рецидива или распространения, полностью или частично, кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS или его симптома.

Применительно к ингибитору TOR киназы термин "эффективное количество" означает количество, способное облегчить, полностью или частично, симптомы, ассоциированные с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, или замедлить или остановить дальнейшую прогрессию или ухудшение таких симптомов, или вылечить или предотвратить кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS. Эффективное количество ингибитора TOR киназы, например в фармацевтической композиции, может находиться на уровне, который произведет желаемый эффект; например приблизительно от 0,005 мг/кг массы тела субъекта до приблизительно 100 мг/кг массы тела пациента в стандартной лекарственной форме как для перорального, так и для парентерального введения. Как будет очевидно специалистам в данной области техники, ожидается, что эффективное количество ингибитора TOR киназы, раскрытого в настоящем документе, может варьировать в зависимости от тяжести симптома, подлежащего лечению.

Используемые в настоящем документе термины "пациент" и "субъект" включают животное, включая без ограничения такое животное, как корова, обезьяна, лошадь, овца, свинья, курица, индюк, перепел, кошка, собака, мышь, крыса, кролик или морская свинка, согласно одному варианту осуществления, млекопитающее, и согласно другому варианту осуществления - человека. Согласно одному варианту осуществления "пациент" или "субъект" представляет собой человека с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS. Согласно одному варианту осуществления пациент представляет собой человека с гистологически или цитологически подтвержденным кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, включая субъектов, которые прошли (или не были способны перенести) стандартную противораковую терапию или для которых не существует стандартной противораковой терапии.

В контексте кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS лечение может быть, среди прочих, определено как ингибирование прогрессии заболевания, ингибирование роста опухоли, уменьшение первичной(ых) и/или вторичной(ых) опухоли(ей), облегчение связанных с опухолью симптомов, улучшение качества жизни, ингибирование секретируемых опухолью факторов (включая простатоспецифический антиген или PSA), отсроченное возникновение первичной(ых) и/или вторичной(ых) опухоли(ей), замедленное развитие первичной(ых) и/или вторичной(ых) опухоли(ей), сниженное число появлений первичной(ых) и/или вторичной(ых) опухоли(ей), замедленная или сниженная тяжесть вторичных эффектов заболевания, остановка роста опухоли и/или регрессия опухолей. Согласно определенным вариантам осуществления лечение кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS может быть определено как ингибирование фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в циркулирующей крови и/или клетках опухоли и/или кожных биоптатах или опухолевых биоптатах/аспиратах до, во время и/или после обработки ингибитором TOR киназы. Согласно другим вариантам осуществления лечение кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS может быть определено как ингибирование активности ДНК-зависимой протеинкиназы (DNA-PK) в образцах кожи и/или опухолевых биоптатах/аспиратах, например, посредством оценки количества pDNA-PK S2056 в качестве биомаркера путей повреждения ДНК до, во время и/или после обработки ингибитором

TOR киназы. Согласно одному варианту осуществления образец кожи облучают УФ-светом. В крайнем случае, полное ингибирование в настоящем документе называют профилактикой или химиопрофилактикой. В этом контексте, термин "профилактика" включает либо полное предотвращение начала клинически очевидного кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, либо предотвращение начала преклинически очевидной стадии кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS. Предполагается, что этим определением также охватывается профилактика трансформации клеток в злокачественные или остановка или обратная прогрессия трансформации предопухолевых клеток в злокачественные клетки. Этот термин включает профилактическое лечение пациентов с риском развития кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1A-1C представлены результаты анализа ингибирования соединением 1 клонального роста ETS-положительных и ETS-отрицательных линий клеток;

на фиг. 2 - результаты анализа каспаз в методе оценки индуцированного соединением 1 апоптоза для ETS-положительных и ETS-отрицательных линий клеток;

на фиг. 3 - результаты анализа инвазии клеток для ETS-положительных и ETS-отрицательных линий клеток;

на фиг. 4 - результаты кометного анализа на усиление соединением 1 повреждения ДНК у ETS-положительных клеток;

на фиг. 5 - противоопухолевая активность соединения 1 в модели кастрационно-резистентного рака предстательной железы LNCaP (LNCaP-HR).

Ингибитор TOR киназы.

Ингибитор TOR киназы представляет собой 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиазин-2(1H)-он, далее соединение 1;

и его фармацевтически приемлемые соли, стереоизомеры и таутомеры.

Способы применения

В настоящем документе представлены способы лечения или профилактики кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR киназы пациенту с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS. Согласно определенным вариантам осуществления ингибитор TOR киназы вводят пациенту с местно распространенным, рецидивирующим или метастатическим кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, не подлежащим радикальной хирургической резекции. Согласно другому варианту осуществления ингибитор TOR киназы вводят пациенту, который получал по меньшей мере одну первичную линию химиотерапии препаратами платины. Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор TOR киназы вводят пациенту с опухолью со сверхэкспрессией DNA-PK.

Согласно некоторым вариантам осуществления в настоящем документе представлены способы лечения кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS), причем такие способы включают введение эффективного количества ингибитора TOR киназы пациенту с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS), причем лечение приводит к одному или нескольким эффектам, включающим, среди прочих, ингибирование прогрессии заболевания, ингибирование роста опухоли, уменьшение первичной опухоли, облегчение связанных с опухолью симптомов, ингибирование секретируемых опухолью факторов (включая секретируемые опухолью гормоны, например, такие как гормоны, которые участвуют в карциноидном синдроме), отсроченное возникновение первичных или вторичных опухолей, замедленное развитие первичных или вторичных опухолей, сниженную частоту возникновения первичных или вторичных опухолей, замедленную или сниженную тяжесть вторичных эффектов заболевания, остановку роста опухоли и регрессию опухолей, увеличенное время до прогрессирования заболевания (TTP), увеличенную выживаемость без прогрессирования (PFS), и/или увеличенную общую выживаемость (OS).

Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе представлены способы улучшения у пациента критериев, разработанных 2-й рабочей группой по простатоспецифическому антигену для рака предстательной железы (см. Scher H., Halab S., Tannock S., Morris M., Sternberg C.N. et al. Design and end points of clinical trials for patients with progressive prostate cancer and castrate levels of testosterone: Recommendations of the Prostate Cancer Clinical Trials Working Group. J Clin. Oncol. 2008; (26) 148-1159), включающие введение эффективного количества ингибитора TOR киназы пациенту с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS.

Согласно одному варианту осуществления в настоящем документе представлены способы ингибирования фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или AKT у пациента с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, включающие введение упомянутому пациенту эффективного количества ингибитора TOR киназы. Согласно некоторым вариантам

осуществления ингибирование фосфорилирования оценивают в полученном от пациента биологическом образце, таком как циркулирующая кровь и/или клетки опухоли, кожные биоптаты и/или опухолевые биоптаты или аспираты. Согласно некоторым вариантам осуществления величину ингибирования фосфорилирования оценивают в сравнении с величиной фосфорилированных S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ до и после введения ингибитора TOR киназы. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе представлены способы измерения ингибирования фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 или АКТ у пациента с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, включающие введение упомянутому пациенту эффективного количества ингибитора TOR киназы, измерение величины фосфорилированных S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ у упомянутого пациента и сравнение упомянутой величины фосфорилированных S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ с таковой у упомянутого пациента до введения эффективного количества ингибитора TOR киназы.

Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе представлены способы ингибирования фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в биологическом образце пациента с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, включающие введение упомянутому пациенту эффективного количества ингибитора TOR киназы и сравнение величин фосфорилированных S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в биологическом образце пациента, полученных до и после введения упомянутого ингибитора TOR киназы, причем величина фосфорилированных S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в упомянутом биологическом образце, полученном после введения упомянутого ингибитора TOR киназы, меньшая по сравнению с величиной фосфорилированных S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в упомянутом биологическом образце, полученном до введения упомянутого ингибитора TOR киназы, указывает на ингибирование.

Согласно одному варианту осуществления в настоящем документе представлены способы ингибирования активности ДНК-зависимой протеинкиназы (DNA-PK) у пациента с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, включающие введение упомянутому пациенту эффективного количества ингибитора TOR киназы.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибирование DNA-PK оценивают в коже пациента с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, согласно одному примеру, в образце кожи упомянутого пациента, облученном УФ-светом. Согласно другому варианту осуществления ингибирование DNA-PK оценивают в опухолевом биоптате или аспирате, полученном от пациента с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS. Согласно одному варианту осуществления ингибирование оценивают путем измерения величины фосфорилированной DNA-PK S2056 (также известной как pDNA-PK S2056) до и после введения ингибитора TOR киназы. Согласно определенным вариантам осуществления, в настоящем документе представлены способы измерения ингибирования фосфорилирования DNA-PK S2056 в образце кожи пациента с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, включающие введение упомянутому пациенту эффективного количества ингибитора TOR киназы, измерение величины фосфорилированной DNA-PK S2056, присутствующей в образце кожи, и сравнение упомянутой величины фосфорилированной DNA-PK S2056 с таковой в образце кожи, полученном от упомянутого пациента до введения эффективного количества ингибитора TOR киназы. Согласно одному варианту осуществления образец кожи облучают УФ-светом.

Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе представлены способы ингибирования активности ДНК-зависимой протеинкиназы (DNA-PK) у пациента с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, включающие введение упомянутому пациенту эффективного количества ингибитора TOR киназы и сравнение величины фосфорилированной DNA-PK в биологическом образце пациента, полученном до и после введения упомянутого ингибитора TOR киназы, причем величина фосфорилированной DNA-PK в упомянутом биологическом образце, полученном после введения упомянутого ингибитора TOR киназы, меньшая по сравнению с величиной фосфорилированной DNA-PK в упомянутом биологическом образце, полученном до введения упомянутого ингибитора TOR киназы, указывает на ингибирование.

Ингибитор TOR киназы может быть сочетать с лучевой терапией или оперативным вмешательством. Согласно определенным вариантам осуществления ингибитор TOR киназы вводят пациенту, который подвергается лучевой терапии, который ранее подвергался лучевой терапии или который будет подвергаться лучевой терапии. Согласно определенным вариантам осуществления ингибитор TOR киназы вводят пациенту, который подвергался оперативному вмешательству по удалению опухоли.

Далее в настоящем документе представлены способы лечения пациентов, которых ранее лечили от кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, но которые не чувствительны к стандартным видам терапии, а также пациентов, которые ранее не подвергались лечению. Далее в настоящем документе представлены способы лечения пациентов, которые подвергались хирургическому вмешательству в попытке лечить соответствующее состояние, а также пациентов, кто не подвергался такому лечению. Поскольку пациенты с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS могут иметь гетерогенные

клинические проявления и различные клинические исходы, назначаемое пациенту лечение может варьировать в зависимости от прогноза для него/нее. Клиницист сможет без проведения лишних экспериментов легко определить конкретные вторичные средства, типы оперативного вмешательства и типы нелекарственной стандартной терапии, которые могут быть эффективно использованы для лечения конкретного пациента с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS.

Согласно одному варианту осуществления кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS представляет собой рак, при котором активирован путь PI3K/mTOR. Согласно определенным вариантам осуществления кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS представляет собой рак, при котором путь PI3K/mTOR активирован вследствие утраты PTEN, мутации PI3KCa или сверхэкспрессии EGFR, или их сочетанием.

Ингибиторы TOR киназы могут быть введены пациенту перорально или парентерально в общепринятой форме препаратов, такой как капсулы, микрокапсулы, таблетки, гранулы, порошок, пастилки, пилюли, суппозитории, инъекции, суспензии и сиропы. Подходящие лекарственные формы могут быть приготовлены посредством обычно применяемых способов с использованием традиционных, органических или неорганических добавок, таких как эксципиент (например, сахароза, крахмал, маннит, сорбит, лактоза, глюкоза, целлюлоза, тальк, фосфат кальция или карбонат кальция), связующее вещество (например, целлюлоза, метилцеллюлоза, гидроксиметилцеллюлоза, полипропилпирролидон, поливинилпирролидон, желатин, аравийская камедь, полиэтиленгликоль, сахароза или крахмал), разрыхлитель (например, крахмал, карбоксиметилцеллюлоза, гидроксипропилкрахмал, гидроксипропилцеллюлоза с низкой степенью замещения, бикарбонат натрия, фосфат кальция или цитрат кальция), смазка (например, стеарат магния, легкая безводная кремниевая кислота, тальк или лаурилсульфат натрия), вкусоароматизатор (например, лимонная кислота, ментол, глицин или апельсиновый порошок), консервант (например, бензоат натрия, бисульфит натрия, метилпарабен или пропилпарабен), стабилизатор (например, лимонная кислота, цитрат натрия или уксусная кислота), средство, способствующее суспендированию (например, метилцеллюлоза, поливинилпирролидон или стеарат алюминия), средство, способствующее диспергированию (например, гидроксипропилметилцеллюлоза), разбавитель (например, вода), и восковая основа (например, масло какао, белый вазелин или полиэтиленгликоль). Эффективное количество ингибитора TOR киназы в фармацевтической композиции может находиться на уровне, который приведет к желаемому эффекту; например, приблизительно от 0,005 мг/кг массы тела пациента до приблизительно 10 мг/кг массы тела пациента в стандартной лекарственной форме как для перорального, так и для парентерального введения.

Вводимая пациенту доза ингибитора TOR киназы довольно широко варьирует и может быть рассмотрена лечащим врачом. В целом, ингибиторы TOR киназы можно вводить от одного до четырех раз в сутки в дозе приблизительно от 0,005 до приблизительно 10 мг/кг массы тела пациента, но вышеприведенная дозировка может быть соответственно изменена в зависимости от возраста, массы тела и медицинского состояния пациента и типа введения. Согласно одному варианту осуществления доза составляет приблизительно от 0,01 до приблизительно 5 мг/кг массы тела пациента, приблизительно от 0,05 до приблизительно 1 мг/кг массы тела пациента, приблизительно от 0,1 до приблизительно 0,75 мг/кг массы тела пациента, приблизительно от 0,25 до приблизительно 0,5 мг/кг массы тела пациента или приблизительно от 0,007 до приблизительно 1,7 мг/кг массы тела пациента. Согласно одному варианту осуществления в сутки дается одна доза. Согласно другому варианту осуществления в сутки даются две дозы. В любом конкретном случае количество вводимого ингибитора TOR киназы будет зависеть от таких факторов, как растворимость активного компонента, используемая лекарственная форма и путь введения.

Согласно другому варианту осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, включающие введение нуждающемуся в этом пациенту приблизительно от 0,375 до приблизительно 750 мг/сутки, приблизительно от 0,75 до приблизительно 375 мг/сутки, приблизительно от 3,75 до приблизительно 75 мг/сутки, приблизительно от 7,5 до приблизительно 55 мг/сутки, приблизительно от 18 до приблизительно 37 мг/сутки, приблизительно от 0,5 до приблизительно 60 мг/сутки или приблизительно от 0,5 до приблизительно 128 мг/сутки ингибитора TOR киназы.

Согласно другому варианту осуществления в настоящем документе представлены способы лечения или профилактики кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, включающие введение нуждающемуся в этом пациенту приблизительно от 0,5 до приблизительно 1200 мг/сутки, приблизительно от 10 до приблизительно 1200 мг/сутки, приблизительно от 100 до приблизительно 1200 мг/сутки, приблизительно от 400 до приблизительно 1200 мг/сутки, приблизительно от 600 до приблизительно 1200 мг/сутки, приблизительно от 400 до приблизительно 800 мг/сутки или приблизительно от 600 до приблизительно 800 мг/сутки ингибитора TOR киназы. Согласно конкретному варианту осуществления способы, раскрытые в настоящем документе, включают введение нуждающемуся в этом пациенту 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120 или 128 мг/сутки ингибитора TOR киназы.

Согласно другому варианту осуществления в настоящем документе представлены стандартные лекарственные формы, которые содержат приблизительно между 0,1 и 2000 мг, приблизительно между 1 и 200 мг, приблизительно между 35 и 1400 мг, приблизительно между 125 и 1000 мг, приблизительно между 250 и 1000 мг или приблизительно между 500 и 1000 мг ингибитора TOR киназы.

Согласно конкретному варианту осуществления в настоящем документе представлены стандартные лекарственные формы, содержащие приблизительно 0,1, 0,25, 0,5, 1, 5, 7,5, 10, 15, 20, 30, 45, 50, 60, 75, 100, 125, 150, 200, 250, 300, 400, 600 или 800 мг ингибитора TOR киназы.

Согласно другому варианту осуществления в настоящем документе представлены стандартные лекарственные формы, которые содержат 0,1, 0,2 5, 0,5, 1, 2,5, 5, 7,5, 10, 15, 20, 30, 35, 50, 70, 100, 125, 140, 175, 200, 250, 280, 350, 500, 560, 700, 750, 1000 или 1400 мг ингибитора TOR киназы. Согласно конкретному варианту осуществления в настоящем документе представлены стандартные лекарственные формы, которые содержат 5, 7,5, 10, 15, 20, 30, 45 или 60 мг ингибитора TOR киназы.

Ингибитор TOR киназы может быть введен один, два, три, четыре или более раз в сутки.

Ингибитор TOR киназы может быть введен перорально исходя из соображений удобства. Согласно одному варианту осуществления при пероральном введении ингибитор TOR киназы вводят с едой и водой. Согласно другому варианту осуществления ингибитор TOR киназы диспергируют в воде или соке (например, яблочном соке или апельсиновом соке) и вводят перорально в виде суспензии. Согласно другому варианту осуществления при пероральном введении ингибитор TOR киназы вводят натошак.

Ингибитор TOR киназы также может быть введен внутривенно, внутримышечно, интраперитонеально, чрескожно, внутривенно, подкожно, интраназально, эпидурально, сублингвально, интрацеребрально, интравагинально, чрескожно, ректально, чресслизисто, посредством ингаляции или местно в уши, нос, глаза или на кожу. Способ введения оставляют на усмотрение лечащего врача, и отчасти он может зависеть от локализации заболевания.

Согласно одному варианту осуществления в настоящем документе представлены капсулы, содержащие ингибитор TOR киназы без дополнительного носителя, наполнителя или основы.

Примеры

Биологические примеры.

Биохимические методы анализа.

Анализ mTOR методом HTR-FRET. Последующее представляет собой пример анализа, который может быть использован для определения ингибирующей TOR киназу активности исследуемого соединения. Ингибиторы TOR киназы растворяли в ДМСО, готовили в виде 10 мМ маточных растворов и разбавляли соответствующим образом для экспериментов. Реагенты приготавливали следующим образом.

"Простой буфер TOR" (используется для разбавления высоко глицериновой фракции TOR): 10 мМ Tris, pH 7,4, 100 мМ NaCl, 0,1% Tween-20, 1 мМ DTT. mTOR производства Invitrogen (кат. № PV4753) разбавляли этим буфером до аналитической концентрации 0,200 мкг/мл.

Раствор АТФ/субстрата: 0,075 мМ АТФ, 12,5 мМ MnCl₂, 50 мМ HEPES, pH 7,4, 50 мМ β-GOP, 250 нМ микроцистин LR, 0,25 мМ EDTA, 5 мМ DTT и 3,5 мкг/мл GST-p70S6.

Раствор проявляющего реагента: 50 мМ HEPES, pH 7,4, 0,01% Triton X-100, 0,01% BSA, 0,1 мМ EDTA, 12,7 мкг/мл Су5-αGST производства Amersham (кат. №PA92002V), 9 нг/мл α-фосфо-p70S6 (Thr389) (мышинное моноклональное антитело-маркер передачи сигнала клетками #9206L), 627 нг/мл α-mouse Lance Eu (Perkin Elmer кат. №AD0077).

К 20 мкл простого буфера mTOR добавляют 0,5 мкл исследуемого соединения в ДМСО. Для индукции реакции 5 мкл раствора АТФ/субстрат добавляли к 20 мкл раствора простого буфера TOR (контроль) и к приготовленному выше раствору соединения. Анализ останавливали через 60 мин путем добавления 5 мкл раствора 60 мМ EDTA; затем добавляли 10 мкл раствора проявляющего реагента и выдерживали смесь в течение по меньшей мере 2 ч, после чего считывали на микропланшетном ридере Perkin-Elmer, установленном для обнаружения LANCE EU методом TR-FRET (возбуждение при 320 нм и испускание при 495/520 нм).

Ингибиторы киназы TOR тестировали в анализе mTOR методом HTR-FRET и обнаруживали в нем активность, причем определенные соединения характеризовались значением IC₅₀ менее 10 мкМ в анализе, некоторые соединения характеризовались значением IC₅₀ между 0,005 и 250 нМ, другие соединения характеризовались значением IC₅₀ между 250 и 500 нМ, другие соединения характеризовались значением IC₅₀ между 500 нМ и 1 мкМ, и другие соединения характеризовались значением IC₅₀ между 1 и 10 мкМ.

Анализ DNA-ПК. Анализы DNA-ПК проводили с использованием методик, поставляемых с набором для анализа DNA-ПК (Promega кат. №V7870). Фермент DNA-ПК приобретали у Promega (Promega кат. №V5811).

При данном анализе выборочные ингибиторы TOR киназ, описанные в настоящем документе, характеризуются или предположительно характеризуются значением IC₅₀ ниже 10 мкМ, причем некоторые описанные в настоящем документе ингибиторы киназ TOR характеризуются значением IC₅₀ менее 1 мкМ, а другие характеризуются значением IC₅₀ ниже 0,10 мкМ.

Методы анализа на клетках.

Оценка клонального роста: анализ ингибирования роста ETS-положительных и ETS-отрицательных линий клеток.

В общем, клетки (клеточные линии рака предстательной железы LNCaP, VCaP, DU145 или PC3, или PC3-ERG, изогенная модель ETS на фоне PC3) обрабатывали соединением (например, соединением 1 (представленный в настоящем документе ингибитор TOR киназы, характеризующийся молекулярной формулой $C_{16}H_{16}N_8O$), ДМСО в качестве отрицательного контроля или олапарибом) в некотором диапазоне концентраций (например, 10, 3, 1, 0,3, 0,1, 0,03 и/или 0,01 мкМ) в течение некоторого периода времени, например в течение 4 ч. Затем клетки трижды отмывали фосфатным буфером, обрабатывали трипсином и переносили в 6-луночные планшеты с требуемой плотностью клеток. Каждые 3 суток среды заменяли содержащими соединение свежими средами. Спустя обычно 10-18 суток, клетки фиксировали, выжившие колонии окрашивали 0,1% кристаллическим фиолетовым и подсчитывали на Image Quant (BD Biosciences).

На фиг. 1А-С представлен эффект обработки соединением на активность каспазы. Как видно, сверхэкспрессия фактора транскрипции ETS сенситизирует клетки PC3 к ингибированию соединением 1.

Анализ каспаз: анализ апоптоза для ETS-положительных и ETS-отрицательных линий.

Увеличивающиеся концентрации соединения 1 при помощи акустического дозатора (EDC ATC-100) вносили в пустой 384-луночный планшет по схеме серийного (3-кратного) разведения в 10 точках в двух повторах в планшете. Затем клетки в требуемых плотностях непосредственно высевали в 384-луночные планшеты с внесенным соединением 1. Клетки культивировали в течение 48 ч при 37°C/5% CO₂, оценивали при помощи Caspase 3/7-Glo (Promega Corporation, Madison, WI) и считывали люминесценцию. На фиг. 2 представлена активность каспазы после однократного воздействия соединением 1 в ETS-положительных (VCaP и LNCaP) и ETS-отрицательных (PC3 и DU145) линиях клеток рака предстательной железы, и в ETS-положительных клеточных линиях продемонстрирован повышенный апоптоз.

Анализ инвазии клеток для ETS-положительных и ETS-отрицательных линий.

Клетки (линии клеток рака предстательной железы LNCaP, VCaP, DU145 или PC3) в течение 48 ч обрабатывали соединением 1 (DMSO, 10 мкМ соединения 1 или 10 мкМ олапариба). Затем клетки обрабатывали трипсином и повторно высевали на покрытый матригелем BD Bioscoat вкладыш для инвазионной камеры с 8,0 мкМ порами в 24-луночный культуральный планшет в среду без сыворотки. Затем путем добавления полных сред в качестве хемоаттрактанта индуцировали инвазию клеток в нижнюю камеру. Через 48 ч инкубации при 37°C/5% CO₂ неинвазирующие клетки и ЕС матрикс осторожно удаляли ватным тампоном. Инвазирующие клетки, которые были расположены на нижней стороне мембраны, окрашивали кристаллическим фиолетовым, сушили на воздухе и фотографировали (фиг. 3). Как можно видеть, обработка соединением 1 приводила к снижению инвазии клеток.

Анализ поврежденных ДНК: кометный анализ.

Как правило, линии клеток рака предстательной железы, например VCaP и LNCaP, высевают, например, в количестве 250000 клеток/мл в 6-луночный планшет за 24 ч до обработки соединением 1 или основной-контролем. Например, спустя 48 ч клетки обрабатывают трипсином, собирают центрифугированием и ресуспендируют в PBS. Подсчет клеток нормализуют до 1×10^5 клеток/мл. Суспендированные клетки (25 мкл) смешивают с 250 мкл 1,0% сверхчистой легкоплавкой агарозой (Invitrogen), приготовленной в 1× Трис-боратном буфере. Смесь агарозы и клеток по капельно наносят на предметные стекла, позволяя им затвердеть при 4°C в темноте в течение 20 мин, после чего погружают в лизирующий раствор для кометного анализа (Trevigen, Gaithersburg, MD) на 45 мин при 4°C в темноте. Избыток буфера удаляют и погружают стекла в свежеприготовленный нейтральный раствор (60,57 г Трис-основания и 204,12 г ацетата натрия, растворенные в 450 мл дистиллированной воды, корректируют до pH 9,0 добавлением ледяной уксусной кислоты) на 40 мин при комнатной температуре в темноте. Стекла дважды промывают путем погружения в 1×TBE буфер, после чего проводят нейтральный электрофорез при 20 В в течение 60 мин. Стекла фиксируют в 70% этаноле в течение 5 мин. После сушки агарозы на воздухе предметные стекла окрашивают зеленым красителем SYBR (Invitrogen) и получают изображения с 10× и 40× объективом. Хвостовые моменты кометного анализа оценивают с использованием программного обеспечения для обработки изображений COMETscore.v1.5 (AutoCOMET.com, Sumerduck, VA), как описано производителем, более чем с 100 клетками, анализируемыми в проводимых в трех повторах экспериментах. Данные (см. фиг. 4) показывают, что соединение 1 усиливает повреждение ДНК в ETS-положительных клетках.

Методы анализа *in vivo*.

Ксенотрансплантантная модель *In vivo* кастрационно-резистентного рака предстательной железы LNCaP (LNCaP-HR).

Исследование ксенотрансплантации проводили на мышах с кастрационно-резистентной опухолью LNCaP-HR. Кастрированных самцов мышей SCID подкожно инокулировали клетками LNCaP-HR в боковую область над правой задней лапой. После инокуляции животных опухоли оставляли расти до при-

близительно 325 мм^3 перед рандомизацией. На 26 сутки после инокуляции опухолевыми клетками мышей с опухолями LNCaP-HR в пределах между 98 и 530 мм^3 объединяли вместе и рандомизировали в различные группы лечения. Соединение 1 смешивали с 0,5% СМС и 0,25% Tween 80 в воде (в виде суспензии). Животным один раз в сутки в течение до 15 суток перорально вводили носитель (СМС-Tween) или соединение 1. Дозы соединения 1 варьировали в диапазоне между 1 и 5 мг/кг.

Выступающий в качестве положительного контроля MDV-3100 (50 мг/кг, Q4D) вводили перорально. MDV-3100 смешивали с 1% СМС, 0,1% Tween 80, 5% диметилсульфоксидом (DMSO) в воде (в виде суспензии). Опухоли измеряли два раза в неделю с использованием штангенциркулей, и рассчитывали объем опухолей по формуле $W^2 \times L / 2$ (где "W" представляет собой ширину опухоли, и "L" представляет собой длину опухоли). Статистический анализ проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным множественным сравнением по Даннетту с контрольной группой, обработанной основой. Соединение 1 значительно ингибировало рост рака предстательной железы LNCaP-HR (см. фиг. 5).

Клиническое исследование.

Многоцентровое открытое исследование с подбором дозы в рамках фазы 1A/1B для оценки безопасности, переносимости, фармакокинетики и предварительной эффективности соединения 1, перорально введенного субъектам с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS.

Соединение 1 вводят перорально субъектам с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS. В настоящем исследовании оценивают безопасность и переносимость соединения 1 у людей, а также его эффективность. Исследование проводят в два этапа: этап с повышением дозы (dose escalation) (этап А) и этап терапии в дозе, достигнутой во время этапа с повышением дозы до значения максимально переносимой дозы (dose expansion) (этап В). Субъектов последовательно включают в проведение этапа А исследования. Включение в проведение этапа В разделяют по типу опухоли.

Соединение 1 предоставляют в трех дозировках (0,25, 1,0 и 5,0 мг), представленных в желатиновых капсулах, содержащих только активный фармацевтический ингредиент. Капсулы упаковывают в бутылки из полиэтилена высокой плотности (HDPE), оснащенные индукционными уплотненными и защищенными от детей крышками из полипропилена. Участвующие в исследовании фармацевты производят упаковку и проводят выдачу соответствующим для каждого субъекта образом.

В этап А, разработанный для установления начальной токсичности, включают от 30 до 60 субъектов.

Для дополнительной оценки профиля безопасности соединения 1 и предоставления информации об его эффективности, в этап В включают приблизительно 100 пациентов с заранее определенными типами опухолей, включающими кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS). Степень ответа опухоли оценивают по типу опухоли и уровню дозы. Выборку для этапа В определяют по эффективности, наблюдаемой на этапе А, и по данным текущих доклинических исследований.

Общий дизайн исследования состоит из периода скрининга (с суток -28 до суток 1), периода лечения и оценки (28-дневных циклов приема один раз в сутки (и/или два раза в сутки) до прогрессирования опухоли, неприемлемой токсичности или решения пациента/врача прекратить введение соединения 1) и периода завершения лечения и последующего наблюдения (процедуры завершения лечения в течение 21 суток с момента получения последней дозы; последующее наблюдение в течение 28 суток после приема последней дозы для окончательной оценки безопасности).

Пациенты начинают дозированно получать соединения 1 один раз в сутки или два раза в сутки (или в другом подходящем режиме) в сутки 1 цикла 1 и ежедневно получают лечение в течение 28-дневных циклов. Введение соединения 1 может быть прекращено при наличии признаков прогрессирования опухоли, но пациенты могут продолжать получать исследуемый препарат, пока исследователь считает его получение полезным. Введение соединения 1 прекращают при наличии неприемлемой токсичности или в том случае, если пациент решит выйти из исследования.

Соединение 1 вводят перорально один или два раза в сутки (или в другом подходящем режиме дозирования) без периода отдыха между циклами. Каждую дозу пациент, не принимавший пищи в течение ночи (минимум 6 ч), принимает один раз в сутки утром по меньшей мере с 200 мл воды. Прием пищи откладывают по меньшей мере на 90 мин после приема препарата в те дни, когда соединение 1 принимают в домашних условиях. В дни посещения клиники утреннюю дозу соединения 1 вводят в клинике после завершения каких-либо предшествующих введению дозы исследований. Еда может приниматься после завершения всех исследований, проводимых натощак, однако ни в коем случае не ранее, чем через 90 мин после приема препарата (через 3 ч после введения на сутки 15). Для субъектов, получающих соединение 1 один раз в сутки, которых беспокоят симптомы, связанные с желудочно-кишечным трактом, усталость или другие симптомы, сохраняющиеся и после окончания цикла 1, дозировка может быть смещена на конец суток, что позволяет пациенту поддерживать 3-часовое разделение между введением соединения 1 и последним приемом пищи и 90-минутную задержку перед дальнейшим потреблением

пищи. Если введение было задержано на одни сутки, то соединение 1 может приниматься на 12 ч позже; в противном случае дозу необходимо пропустить.

Сначала соединение 1 вводят в режиме один раз в сутки.

Дозы вводят по нарастанию после удовлетворительных результатов о безопасности более низких доз. Между датами увеличения дозы приходится минимум 28 дней после первой введенной дозы последнему пациенту. Включение в каждую группу регулируют так, чтобы для оценки начальной токсичности для каждого субъекта между сутками 1 цикла 1 было как минимум 24 ч.

Каждый цикл введения соединения 1 длится 28 суток, и между циклами не существует периодов отдыха. Пациенты могут продолжать получать соединение 1 до тех пор, пока, по мнению исследователя, они получают пользу от лечения. Введение соединения 1 прекращают при наличии доказательств прогрессирования заболевания, при развитии непереносимой токсичности или в том случае, если субъект или исследователь решат прекратить его.

На этапе А группы пациентов первоначально один раз в сутки получают нарастающие дозы соединения 1 для измерения РК и для идентификации MTD. На этапе А начальная доза соединения 1 составляет 0,5 мг один раз в сутки. Для установления начальной токсичности используют модифицированный метод форсированного титрования (Simon R., Freidlin B., Rubinstein L. et al. Accelerated titration designs for Phase I clinical trials in oncology, J. Nat. Cane Institute 1997; 89, (15):1138-1147). На фазе форсирования состоящие из одного субъекта начальные группы получают соединение 1 в дозе с шагом 100% до достижения первого случая этапа 2 первого цикла или токсичности, более высокой, чем ожидаемая от лекарства, и в этот момент ускоренную фазу останавливают, и эту определенную группу расширяют в общей сложности до 6 пациентов. Затем для установления NTD и MTD начинают стандартную схему увеличения дозирования с шагом дозы примерно 50% и 6 субъектами на группу. На основании оценки токсичности результатов РК/PD или биопсии опухоли, в случае необходимости, также могут быть определены меньший шаг и дополнительные субъекты в составе группы.

На основании промежуточных результатов РК и PD в группах начального дозирования на этапе А также оценивают режим с дозированием два раза в сутки (BID). Этот режим начинают в состоящих из 6 пациентов группах с дозой, равной или меньшей общей суточной дозе, которая уже определена как переносимая, но разделена на две равные дозы, вводимые приблизительно через 12 ч. После этого увеличение дозы для групп с дозированием один раз в сутки и BID может происходить независимо. К рассмотрению также могут быть приняты схемы с интермиттирующим дозированием, сопоставимым или меньшим по интенсивности, чем непрерывное суточное дозирование.

Доза считается непереносимой, если двое или более из 6 оцениваемых субъектов в группе испытывают DLT в процессе цикла 1. После определения NTD увеличение дозы останавливают. MTD определяют как последнюю исследуемую дозу, меньшую NTD, с 0 или 1 из 6 оцениваемых субъектов, испытывающих DLT в процессе цикла 1. Для более точного определения MTD может потребоваться промежуточная доза (т.е. доза между NTD и предшествующей NTD дозой) или дополнительные субъекты в любой группе, как могут потребоваться дополнительные схемы, если новые результаты РК-PD натолкнут на мысль о целесообразности этого.

На этапе В, субъекты могут начинать введение соединения 1 в режиме приема один раз в сутки или BID в MTD и/или более низких дозах, основываясь на полученных на этапе А данных безопасности, РК и PD. На этапе В после каждого из двух циклов терапии около 100 пациентов оценивают на безопасность и противоопухолевую активность.

Для всех пациентов, которые получают по меньшей мере одну дозу соединения 1, будет проанализирована безопасность. На этапе А пациент, для которого возможно проведение оценки на ограничивающую дозу токсичность (DLT), определяется как пациент, который в первые 28 дней после начала цикла 1 либо (а) получил по меньшей мере 21 из запланированных 28 доз соединения 1 в определенной для группы дозе и имеет достаточно данных для оценки безопасности методом SRC, либо (б) испытал DLT, связанную с исследованием препарата. Субъектов в группе, для которых оценка невозможна, заменяют. На этапе В субъекта, для которого возможно проведение оценки эффективности опухолевого ответа, определяют как субъекта, который получил по меньшей мере один цикл соединения 1, и имеет оценку эффективности базового уровня и по меньшей мере одну последующую за ней оценку эффективности.

На этапах А и В в любом цикле допустимо снижение дозы, в том числе в цикле 1. Снижения дозы, которые происходят в цикле 1 на этапе А, формируют DLT, но субъектам позволяют продолжать исследование препарата в сниженной дозе. Для разделения неблагоприятных явлений (АЕ) используют общую терминологию критериев для неблагоприятных явлений Национального института онкологии (NCI CTCАЕ), версия 4, 2009.

При показании к снижению дозы выбирают последующую более низкую дозу на схеме с приемом один раз в сутки или BID. Для снижения дозы с приемом BID ниже начальной дозы, равной 10 мг BID, выбирают 8 мг BID и 4 мг BID. Допускается два снижения дозы. Для охарактеризации внутрииндивидуальных профилей РК с альтернативными дозами, при измененной(ых) дозе(ах) может дополнительно проводиться оценка РК.

На этапе А, в цикле 1 не допускается внутрииндивидуальное повышение дозы за пределами дозы,

первоначально назначенной субъекту. Субъекты, продолжающие прием соединения 1 вне цикла 1, могут после подтверждения методом SRC получать повышенные дозы, обеспечивая альтернативный уровень доз, который, как было показано, хорошо переносится по меньшей мере одной группой других субъектов в настоящем исследовании. В этих случаях может проводиться дополнительная оценка ПК с более высокими дозами. На этапе В увеличение дозы за пределы MTD не допускается.

Основные цели этой фазы исследования 1a/1b заключаются в определении безопасности, переносимости, NTD и MTD соединения 1 при пероральном введении взрослым пациентам и в определении характеристик ПК при пероральном введении соединения 1. Вторичные цели заключаются в оценке степени ингибирования фосфорилирования S6RP и/или 4E-BP1 вследствие активности mTORC1 и фосфорилирования AKT и/или других соответствующих биомаркеров вследствие активности mTORC2 в крови, кожи и/или биоптатах/аспиратах опухолей, и в изучении противоопухолевой активности соединения 1 при выбранных дозах/схемах приема доз по типу опухоли. Дополнительные вторичные цели заключаются в оценке ингибирования активности DNA-ПК в образцах кожи, облученных УФ-светом и/или опухолевых биоптатах/аспиратах с использованием pDNA-ПК S2056 и других соответствующих для повреждения ДНК биомаркеров до воздействия и в процессе воздействия соединением 1.

В дальнейшем по мере необходимости или в зависимости от конкретного случая статистический анализ будет проводиться с учетом разделения группы по фазе исследования, дозе, режиму дозирования и типу опухоли.

Определения применительно к испытуемым группам являются следующими: (а) выборка "начавшие получать лечение" (ИТТ) - все субъекты, которые принимают по меньшей мере одну дозу соединения 1; (б) выборка "для оценки безопасности" - все субъекты, которые принимают по меньшей мере одну дозу соединения 1, которая является такой же, что и для выборки ИТТ в этом исследовании; (с) выборка "для оценки эффективности" (ЕЕ) - все субъекты из выборки ИТТ, удовлетворяющие критериям отбора, завершают по меньшей мере один цикл соединения 1 и имеют оценку эффективности базового уровня и по меньшей мере одну последующую за ней оценку эффективности.

Включение субъектов в исследование заканчивается, когда в каждую группу, разделенную по типу опухоли и дозе/схеме получения дозы, будет набрано до 20 оцениваемых субъектов. На этапе В, в целом, размеры выборки основаны не на статистической оценке, а скорее на клинических эмпирических и практических соображениях, традиционно используемых для фазы I такого рода исследований.

Все субъекты, подвергающиеся оценке эффективности в группе на этапе В, включены в анализ эффективности. Эффективность анализируют для каждого типа опухоли, как только все субъекты будут исключены из исследования или завершат 6 циклов. Двусторонние 95% доверительные интервалы степени ответа обеспечивают типом опухоли. Предоставляют описание каждого случая отдельно для всех субъектов, которые обнаружили полный или частичный ответ в течение этапа А. Предоставляют описательный анализ других доказательств противоопухолевой активности, основанных на клинических, рентгенологических и биологических исследованиях эффективности.

Субъектов оценивают на эффективность в течение четных циклов. Основной показатель эффективности представляет собой степень ответа. Ответ опухоли оценивают на базе критериев, разработанных 2-й рабочей группой по простатоспецифическому антигену (PSAWG2) для рака предстательной железы. Другие дополнительные показатели эффективности, включающие исследования СТС, обобщают с использованием частотных таблиц для категориальных переменных или описательной статистики для непрерывных переменных.

Как для этапа с повышением дозы, так и для этапа с терапией дозой, достигнутой во время этапа с повышением дозы до значения максимально переносимой для этого протокола дозы, критериями включения являются: (а) понимание и добровольное подписание документа о согласии до проведения любых связанных с исследованием анализов/процедур; (б) мужчины и женщины 18 лет и старше, с гистологически и цитологически подтвержденной кастрационно-резистентной злокачественной опухолью предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS, включающих субъектов, для которых при стандартной противораковой терапии наблюдалась прогрессия (или обнаруживалась неспособность переносить терапию) или для которых не существует другой обычной терапии; (с) согласие на скрининг биопсии опухоли (для этапа А необязательно; для этапа В обязательно, за исключением случаев, указанных для отдельных типов опухолей ниже); (d) ECOG PS 0 или 1; (е) следующие лабораторные показатели: (1) абсолютное число нейтрофилов (ANC) $\geq 1,5 \times 10^9/\text{л}$; (2) гемоглобин (Hgb) ≥ 9 г/дл; (3) тромбоциты (plt) $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$; (4) калий в пределах нормы или корректируемый добавками; (5) AST/SGOT и ALT/SGPT $\leq 2,5 \times$ выше верхней границы нормы (ULN) или $\leq 5,0 \times \text{ULN}$ при наличии опухоли печени; (6) общий билирубин сыворотки $\leq 1,5 \times \text{ULN}$; (7) креатинин сыворотки $\leq 1,5 \times \text{ULN}$ или 24-часовой клиренс ≥ 50 мл/мин; и (8) отрицательный тест на беременность, проведенный в сыворотке или моче, в течение 72 ч до начала лечения у женщин детородного возраста; и (f) возможность придерживаться графика визитов согласно исследованию и других требований протокола.

Для этапа с терапией дозой, достигнутой во время этапа с повышением дозы до значения максимально переносимой для этого протокола дозы (этап В), критерии включения представляют собой:

(а) согласие субъектов получать фиксированную формалином, погруженную в парафин (FFPE) архивную опухолевую ткань либо в опухолевых блоках, либо в секционных/смонтированных образцах; и

(б) гистологически подтвержденную кастрационно-резистентную злокачественную опухоль предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS (метастатическая аденокарцинома предстательной железы с измеримым или неизмеримым заболеванием; доказательство слияния гена TMPRSS2-ERG или другого ETS гена или сверхэкспрессии фактора транскрипции ETS; не отвечающая на гормональную терапию или резистентная к ней опухоль с прогрессированием заболевания согласно критериями PSAWG2; уровень тестостерона <50 нг/дл; обязательное наличие у пациента орхихэктомии или текущий прием агониста/антагониста LHRH; гормональные виды терапии (отличные от представленных ниже), препараты, которые снижают PSA (например, мегестролацетат, пальма сереноа) и системные кортикостероиды, прием которых прекращают по меньшей мере за 4 недели до начала приема соединения 1; финастерид, бикалутамид и нилутамид, прием которых прекращают по меньшей мере за 6 недель до приема соединения 1; бисфосфонаты или деносуамаб допускаются в стабильных дозах, но терапия не может быть начата в течение 4 недель до начала получения соединения 1, и необязательные парные биопсии опухоли при доступности опухоли).

Как для этапа с повышением дозы, так и для этапа с терапией дозой, достигнутой во время этапа с повышением дозы до значения максимально переносимой для этого протокола дозы, критериями исключения являются: (а) симптомы метастазов в центральную нервную систему; (б) имеющийся острый или хронический панкреатит; (с) любая периферическая невропатия со степенью ≥ 2 согласно NCI CTCAE; (d) затяжная диарея или нарушение всасывания со степенью ≥ 2 согласно NCI CTCAE, несмотря на лечение, нарушение способности глотать; (е) нарушение функции сердца или клинически значимые сердечно-сосудистые заболевания; (f) сахарный диабет на активном лечении; (g) другие одновременные тяжелые и/или неконтролируемые сопутствующие заболевания (например, активная или неконтролируемая инфекция), которые могут вызывать неприемлемые риски безопасности или нарушение соответствия протоколу; (h) предшествующие системные нацеленные на злокачественную опухоль виды лечения или способы исследования длительностью ≤ 5 периодов полураспада или 4 недель в зависимости от того, что короче, до начала приема исследуемого препарата, или субъекты, не оправившиеся от побочных эффектов такой терапии; (i) крупные операции \leq за 2 недели до начала приема исследуемого препарата, или субъекты, не оправившиеся от побочных эффектов такой терапии; (j) беременность или кормление грудью; (k) способные к деторождению совершеннолетние, не использующие две формы контроля рождаемости; (l) имеющаяся ВИЧ-инфекция; (m) имеющийся хронический гепатит В или вирусный С (HBV/HCV-инфекция), если это не сопутствующие заболевания у пациентов с НСС; (n) любое значимое медицинское состояние, отклонение лабораторных показателей от нормы или психическое заболевание, включающее неспособность проглатывать капсулы, которое не позволяло бы пациентам участвовать в исследовании; (о) любое состояние, включающее наличие отклонений лабораторных показателей от нормы, при котором пациенты подвергаются неоправданному риску, если бы они участвовали в исследовании; (р) любое состояние, которое искажает возможность интерпретировать данные исследования; или (q) одновременно активная вторая злокачественная опухоль, в отношении которой субъект получает терапию, за исключением отличной от меланомы злокачественной опухоли кожи или карциномы *in situ* шейки матки. Для этапа терапии дозой, достигнутой во время этапа с повышением дозы до значения максимально переносимой для этого протокола дозы (этап В), критериями исключения являются: предшествующее лечение средствами, нацеленными как на комплексы mTOR (двойные ингибиторы TORC1+TORC2), так и/или на пути PI3K/AKT. Однако предшествующее лечение отдельными ингибиторами TORC1 (например, рапалогами) допускается для обоих этапов настоящего исследования.

Согласно некоторым вариантам осуществления пациенты, получающие лечение в соответствии с представленным в настоящем документе клиническим протоколом, будут демонстрировать положительный ответ в отношении опухоли, такой как ингибирование роста опухоли или уменьшение размера опухоли. Согласно определенным вариантам осуществления пациенты, получающие лечение в соответствии с представленным в настоящем документе клиническим протоколом, после введения эффективного количества соединения 1 будут достигать критериев оценки ответа солидных опухолей (например, RECIST 1.1), соответствующего полному ответу, частичному ответу или стабилизации заболевания. Согласно определенным вариантам осуществления пациенты, получающие лечение в соответствии с представленным в настоящем документе клиническим протоколом, продемонстрируют повышенную выживаемость без прогрессирования опухоли. Согласно некоторым вариантам осуществления пациенты, получающие лечение в соответствии с представленным в настоящем документе клиническим протоколом, продемонстрируют среди прочего ингибирование прогрессирования заболевания, ингибирование роста опухоли, уменьшение первичной опухоли, облегчение связанных с опухолью симптомов, ингибирование секретлируемых опухолью факторов (включающих секретлируемые опухолью гормоны, такие как гормоны, которые способствуют карциноидному синдрому), задержку появления первичных или вторичных опухолей, замедленное развитие первичных или вторичных опухолей, снижение возникновения первичных или вторичных опухолей, замедленную или уменьшенную выраженность вторичных последствий заболева-

ния, остановленный рост опухоли и регрессию опухолей, увеличение времени до прогрессирования (TTP), увеличение выживаемости без прогрессирования (PFS) и/или увеличение общей выживаемости (OS).

Был приведен целый ряд процитированных материалов, раскрытия которых включены в настоящий документ во всей их полноте посредством ссылки. Варианты осуществления, раскрытые в настоящем документе, не должны ограничиваться объемом конкретных вариантов осуществления, раскрытых в примерах, которые предназначены в качестве иллюстраций некоторых аспектов раскрытых вариантов осуществления, и любые варианты осуществления, которые являются функционально эквивалентными, охватываются настоящим раскрытием. Более того, специалистам в данной области техники станут очевидны различные модификации раскрытых в настоящем документе вариантов осуществления, являющиеся дополнением к представленным и раскрытым в настоящем документе, и, как предполагается, охватываются объемом прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения кастрационно-резистентного рака предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS), включающий введение эффективного количества 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиримидин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера пациенту с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции ETS.

2. Способ по п.1, где кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS) представляет собой рак, при котором активирован путь PI3K/mTOR.

3. Способ по п.2, где кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS) представляет собой рак, при котором путь PI3K/mTOR активирован вследствие утраты PTEN, мутации PI3KCa или сверхэкспрессии EGFR или их сочетания.

4. Способ по п.1, где упомянутому пациенту вводят приблизительно от 0,5 до приблизительно 128 мг/сутки 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиримидин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера.

5. Способ по п.4, где упомянутому пациенту вводят 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 20, 30, 45, 60, 90, 120 или 128 мг/сутки 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиримидин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера.

6. Способ по п.1, где упомянутому пациенту вводят стандартную лекарственную форму, содержащую 0,25, 1,0, 5,0, 7,5 или 10 мг 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиримидин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера.

7. Способ улучшения у пациента состояния в соответствии с критериями, разработанными 2-й рабочей группой по простатоспецифическому антигену (PSAWG2) для рака предстательной железы, включающий введение эффективного количества 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиримидин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера пациенту с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS).

8. Способ по п.7, где кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS) представляет собой рак, при котором активирован путь PI3K/mTOR.

9. Способ по п.8, где кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS) представляет собой рак, при котором путь PI3K/mTOR активирован вследствие утраты PTEN, мутации PI3KCa или сверхэкспрессии EGFR или их сочетания.

10. Способ ингибирования фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в биологическом образце, полученном от пациента с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS), включающий введение упомянутому пациенту эффективного количества 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиримидин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера и сравнение количества фосфорилированных S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в биологическом образце, полученном от пациента перед и после введения упомянутого 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиримидин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера, где количество фосфорилированных S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в упомянутом биологическом образце, полученном после введения упомянутого 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиримидин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-b]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера, меньшее по сравнению с количеством фосфорилированных S6RP, 4E-BP1 и/или АКТ в упомянутом биологическом образце, полученном перед введением упомянутого 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиримидин-3-ил)-3,4-

дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера, указывает на ингибирование.

11. Способ по п.10, где кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS) представляет собой рак, при котором активирован путь PI3K/mTOR.

12. Способ по п.11, где кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS) представляет собой рак, при котором путь PI3K/mTOR активирован вследствие утраты PTEN, мутации PI3KCa или сверхэкспрессии EGFR или их сочетания.

13. Способ ингибирования активности ДНК-зависимой протеинкиназы (DNA-ПК) в образце кожи, полученном от пациента с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS), включающий введение упомянутому пациенту эффективного количества 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера и сравнение количества фосфорилированной DNA-ПК в биологическом образце, полученном от пациента перед и после введения упомянутого 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера, где количество фосфорилированной DNA-ПК в упомянутом биологическом образце, полученном после введения упомянутого 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера, меньшее по сравнению с количеством фосфорилированной DNA-ПК в упомянутом биологическом образце, полученном перед введением упомянутого 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера, указывает на ингибирование.

14. Способ по п.13, где кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS) представляет собой рак, при котором активирован путь PI3K/mTOR.

15. Способ по п.14, где кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS) представляет собой рак, при котором путь PI3K/mTOR активирован вследствие утраты PTEN, мутации PI3KCa или сверхэкспрессии EGFR или их сочетания.

16. Способ измерения ингибирования фосфорилирования S6RP, 4E-BP1 или AKT у пациента с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS), включающий введение упомянутому пациенту эффективного количества 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера, измерение количества фосфорилированного S6RP, 4E-BP1 или AKT у упомянутого пациента и сравнение упомянутого количества фосфорилированного S6RP, 4E-BP1 или AKT с таковым у упомянутого пациента перед введением эффективного количества 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера.

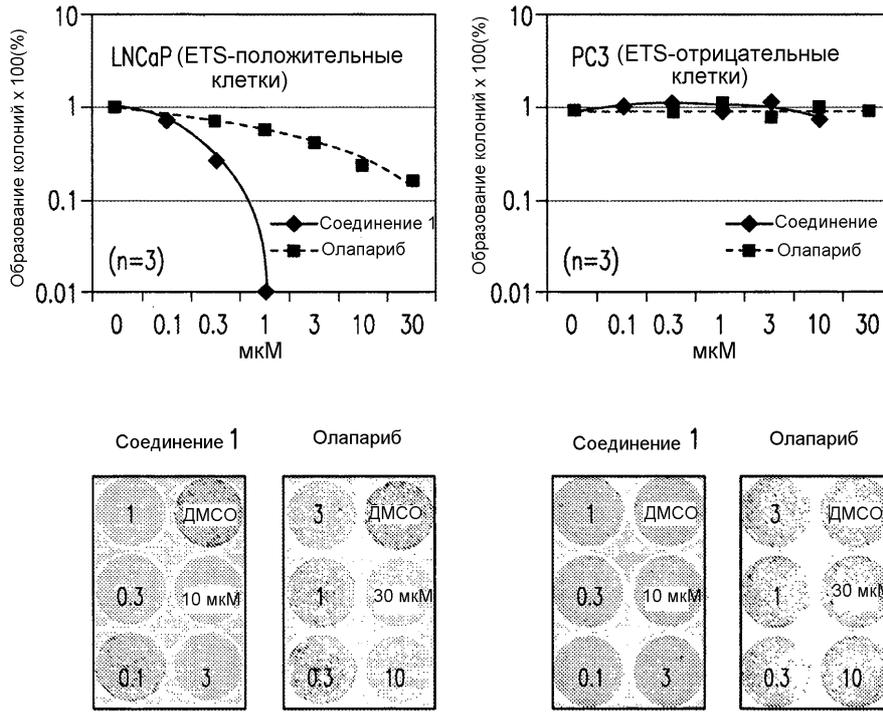
17. Способ по п.16, где кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS) представляет собой рак, при котором активирован путь PI3K/mTOR.

18. Способ по п.17, где кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS) представляет собой рак, при котором путь PI3K/mTOR активирован вследствие утраты PTEN, мутации PI3KCa или сверхэкспрессии EGFR или их сочетания.

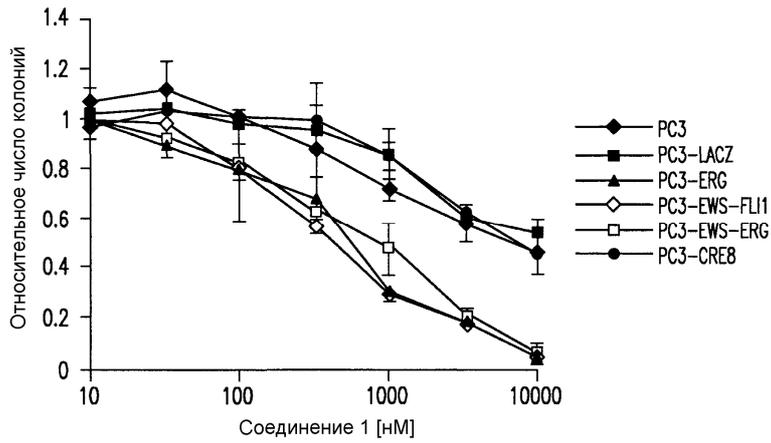
19. Способ измерения ингибирования фосфорилирования DNA-ПК S2056 в образце кожи, полученном от пациента с кастрационно-резистентным раком предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS), включающий в себя введение упомянутому пациенту эффективного количества 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера, измерение количества фосфорилированной DNA-ПК S2056 в образце кожи и сравнение упомянутого количества фосфорилированной DNA-ПК S2056 с таковым в образце кожи, полученном от упомянутого пациента перед введением эффективного количества 1-этил-7-(2-метил-6-(1H-1,2,4-триазол-3-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидропиразино[2,3-*b*]пиразин-2(1H)-она или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомера или таутомера.

20. Способ по п.19, где кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS) представляет собой рак, при котором активирован путь PI3K/mTOR.

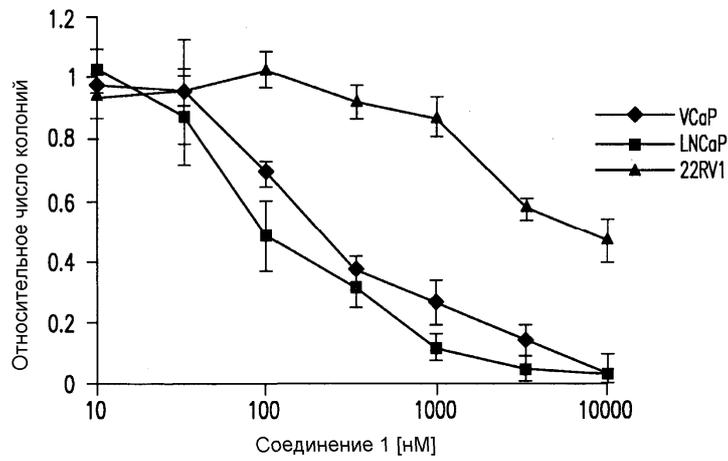
21. Способ по п.20, где кастрационно-резистентный рак предстательной железы со сверхэкспрессией фактора транскрипции E двадцать шесть (ETS) представляет собой рак, при котором путь PI3K/mTOR активирован вследствие утраты PTEN, мутации PI3KCa или сверхэкспрессии EGFR или их сочетания.



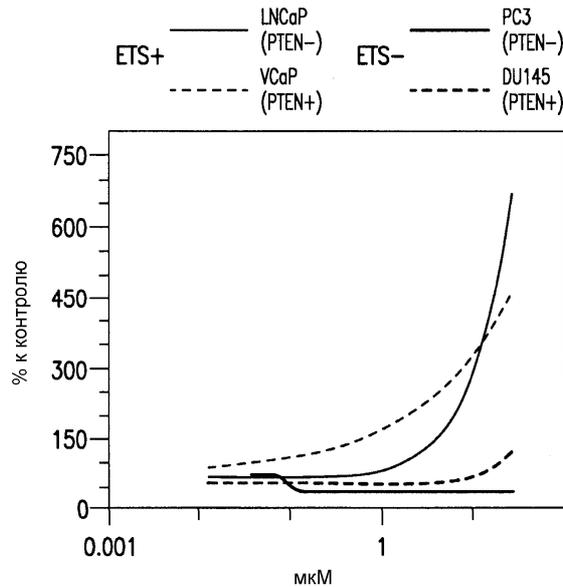
Фиг. 1А



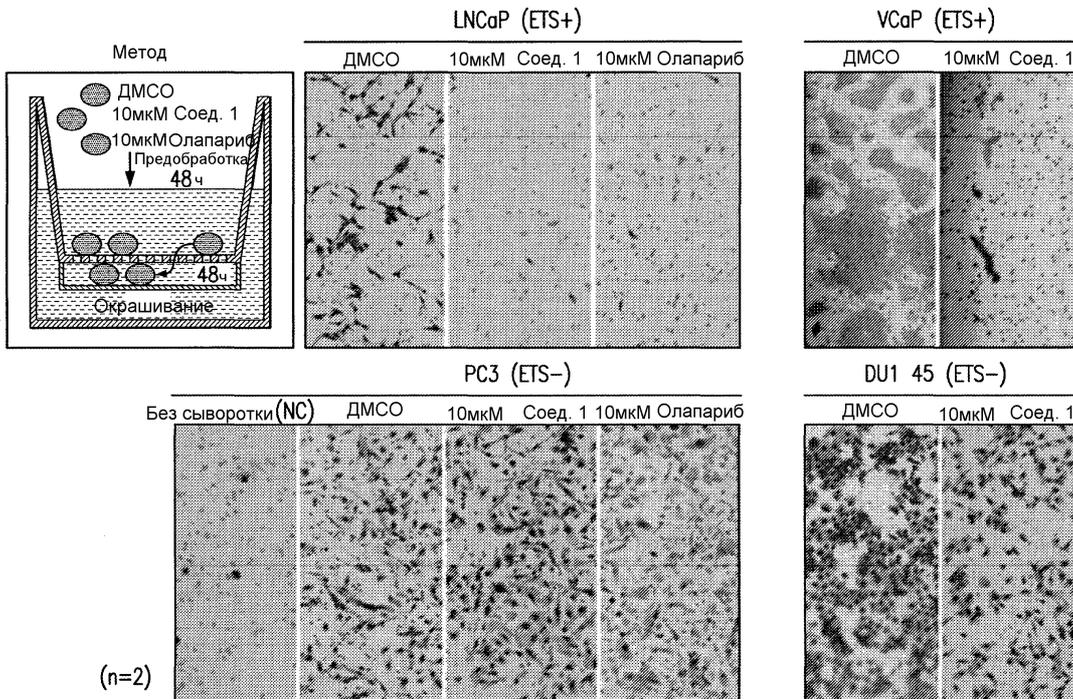
Фиг. 1В



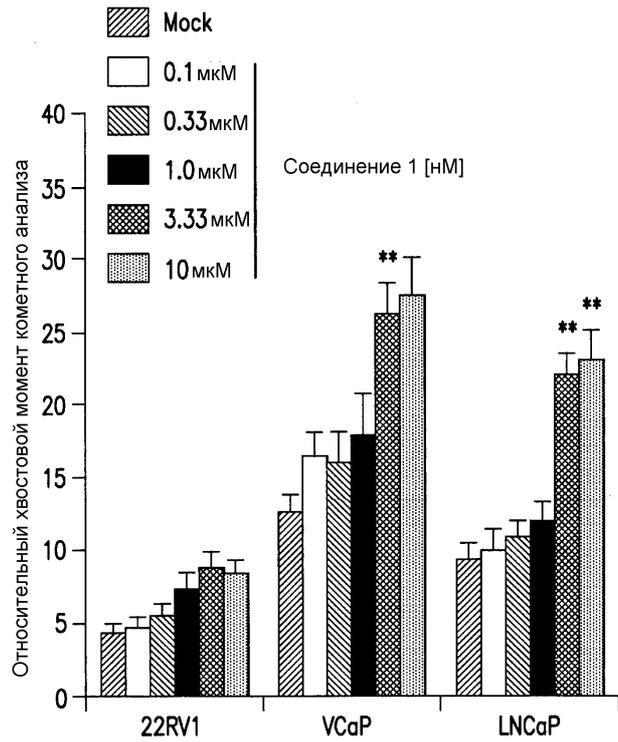
Фиг. 1С



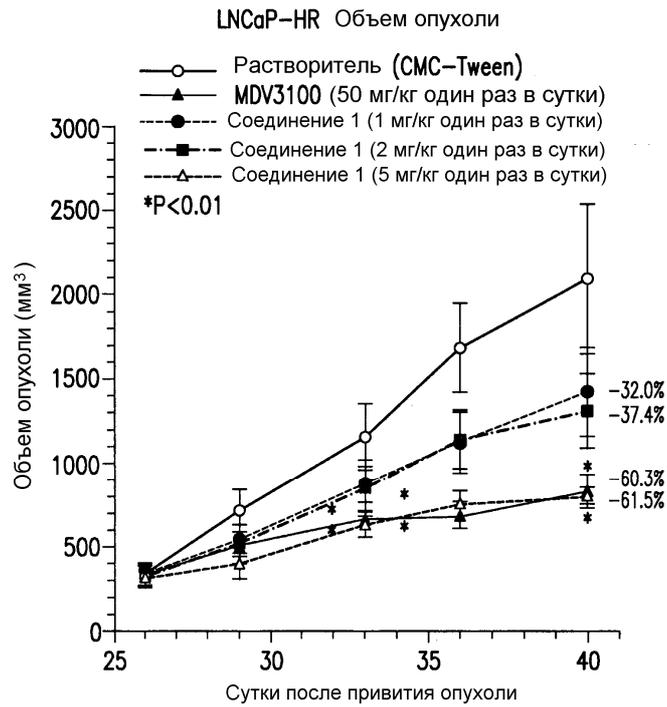
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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