

ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ, ДО ЯКОЇ НАЛЕЖИТЬ ВІНАХІД

Цей винахід стосується лікування метастатичного раку передміхурової залози у людей, яких раніше не лікували гормональними засобами (mHNPC), шляхом введення таким людям безпечної й/або ефективної кількості нірапарибу.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Рак передміхурової залози є найпоширенішим не шкірним злоякісним новоутворенням у чоловіків і другою провідною причиною смерті чоловіків від раку в західному світі. Рак передміхурової залози виникає в результаті неконтрольованого росту аномальних клітин у передміхуровій залозі. Після розвитку ракової пухлини передміхурової залози її росту сприяють андрогени, такі як тестостерон. На ранніх стадіях локалізований рак передміхурової залози часто лікують з застосуванням локальної терапії, яка включає, наприклад, хірургічне видалення передміхурової залози й променевою терапію. Однак у разі неефективності локальної терапії раку передміхурової залози, що спостерігається в третини чоловіків, захворювання прогресує в невиліковне метастатичне захворювання (тобто захворювання, що характеризується розповсюдженням раку з однієї частини організму в інші частини).

Для зниження вироблення тестостерону в яєчках проводять лікування метастатичного раку передміхурової залози з використанням антиандрогенної терапії (AAT) або андрогенсупресивної терапії. AAT включає хірургічну кастрацію (орхіектомію) або використання антагоністів або агоністів рилізінг-гормону лютеїнізуючого гормону (LHRH). Приклади антагоністів LHRH включають дегарелікс. Приклади агоністів LHRH включають ацетат гозереліну, ацетат гістреліну, ацетат лейпроліду й пальмоат триптореліну.

Ацетат абіратерону являє собою проліки абіратерону, які інгібують 17 α -гідроксилазу/C17, 20-ліазу (цитохром P450c17 [CYP17]), ключовий фермент у біосинтезі андрогенів. Ацетат абіратерону в комбінації з преднізоном був схвалений для лікування чоловіків із метастатичним резистентним до кастрації раком передміхурової залози (mCRPC), які раніше проходили хіміотерапію, що включала застосування доцетакселу. Ефективність і безпечність терапії ацетатом абіратерону (добова доза 1000 мг у формі таблетки) і преднізоном (5 мг двічі на добу) у пацієнтів з mCRPC визначали за результатами клінічних досліджень COU-AA-301 і COU-AA-302, обидва з яких являли собою багатовісильні, рандомізовані, подвійні сліпі, плацебо-контрольовані дослідження фази 3. Дослідження COU-AA-301 було першим дослідженням фази 3, яке продемонструвало, що подальше зниження концентрації тестостерону нижче концентрацій, які досягаються за допомогою антиандрогенної терапії (AAT) з використанням інгібування CYP17 за допомогою ацетату абіратерону, покращує виживання пацієнтів із mCRPC. Дослідження COU-AA-302 продемонструвало значне покращення загального виживання (ЗВ) і виживання без прогресування захворювання за даними рентгенологічних досліджень (рВБП) у пацієнтів із mCRPC, яких раніше не лікували хіміотерапевтичними засобами і яких у рамках дослідження лікували ацетатом абіратерону в комбінації з преднізоном порівняно з застосуванням плацебо з преднізоном.

Необхідні дані, що дозволяють визначити, чи ацетат абіратерону в комбінації з низькими дозами преднізону й AAT ефективніший порівняно з монотерапією AAT у покращенні рВБП і ЗВ у суб'єктів із mHNPC з прогностичними факторами високого ризику.

Таким чином, лікування раку передміхурової залози включно з резистентним до кастрації раком передміхурової залози й метастатичним резистентним до кастрації раком передміхурової залози шляхом інгібування полі-(АДФ-рибоза)-полімерази (PARP) нірапарибом у пацієнтів із mCRPC, у тому числі з аномаліями репарації ДНК. Це лікування може відбуватися після хіміотерапії або може проводитися в суб'єктів, які раніше не отримували лікування хіміотерапевтичними засобами. Це лікування можна призначати після застосування агентів, націлених на андрогенний рецептор (AR), таких як ензалутамід, апалутамід і бікалутамід. Отже, нірапариб може становити інший варіант лікування.

СУТЬ ВІНАХОДУ

Цей винахід стосується способу лікування раку передміхурової залози в людини, яка потребує такого лікування, що включає, складається з і/або складається по суті з введення людині терапевтично ефективної кількості нірапарибу.

В одному варіанті втілення цей винахід стосується способу лікування раку передміхурової залози в людини, яка потребує такого лікування, що включає, складається з і/або складається по суті з введення людині терапевтично ефективної кількості нірапарибу, причому рак передміхурової залози являє собою резистентний до кастрації рак передміхурової залози (CRPC), метастатичний резистентний до кастрації рак передміхурової залози й/або резистентний до антиандрогенних засобів рак передміхурової залози.

В іншому варіанті втілення цей винахід стосується способу лікування раку передміхурової залози в людини, яка потребує такого лікування, що включає, складається з і/або складається по суті з введення людині нірапарибу, причому людина є носієм принаймні однієї аномалії репарації ДНК, вибраної з групи, що складається з BRCA-1, BRCA-2, FANCA, PALB2, CHEK2, BRIP1, HDAC2 і ATM.

В іншому варіанті втілення цей винахід стосується способу лікування раку передміхурової залози в

людини, яка потребує такого лікування, що включає, складається з і/або складається по суті з введення людині нірапарибу, причому людина є носієм принаймні однієї аномалії репарації ДНК, яка являє собою BRCA-1 або BRCA-2.

В іншому варіанті втілення цей винахід стосується способу лікування раку передміхурової залози в людини, яка потребує такого лікування, що включає, складається з і/або складається по суті з введення людині нірапарибу в кількості, яка переважно становить від приблизно 30 мг/доба до приблизно 400 мг/доба, більш переважно 300 мг/доба й найбільш переважно являє собою прийом всередину один раз на добу трьох доз по 100 мг лікарських форм для перорального введення.

В іншому варіанті втілення цей винахід стосується композиції, що містить нірапариб, призначеної для лікування раку передміхурової залози, резистентного до антиандрогенних засобів раку передміхурової залози, резистентного до кастрації раку передміхурової залози й метастатичного резистентного до кастрації раку передміхурової залози.

КОРОТКИЙ ОПИС ГРАФІЧНИХ ЗОБРАЖЕНЬ

На Фіг. 1 проілюстровано, що нірапариб інгібує ріст клітинних ліній пухлини передміхурової залози людини *in vitro*.

На Фіг. 2 проілюстровано, що нірапариб пригнічує утворення PAR у двох клітинних лініях пухлини передміхурової залози людини *in vitro*.

На Фіг. 3 проілюстровано, що за результатами вимірювань за допомогою проточної цитометрії лікування нірапарибом індукує підвищення рівня γ -H2AX у клітинах 22RV1 дозозалежним способом.

На Фіг. 4 проілюстровано, що нірапариб індукує γ -H2AX у клітинах 22RV1, LNCaP AR-TB і C4-2B *in vitro*.

На Фіг. 5 проілюстровано, що лікування нірапарибом інгібує ріст пухлин передміхурової залози C4-2B-luc у самців мишей лінії NSG.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

Термін "суб'єкт" стосується ссавця, найпереважніше людини, яка була або є об'єктом лікування, спостереження або дослідження.

Термін "лікування" стосується лікування суб'єкта, що страждає на патологічний стан, і стосується ефекту, який полегшує стан шляхом знищення злоякісних клітин, а також ефекту, який призводить до інгібування прогресування стану й включає зниження швидкості прогресування, припинення прогресування, полегшення стану й виліковування стану. Також включене лікування як профілактичний захід (тобто профілактика).

Термін "терапевтично ефективна кількість" означає таку кількість нірапарибу, яка викликає біологічну або лікувальну відповідь у тканинній системі, очікувану дослідником, ветеринаром, лікарем або іншим клініцистом, яка включає полегшення або часткове полегшення симптомів захворювання, синдрому, стану або порушення, що підлягає лікуванню.

Термін "безпечна й ефективна кількість" стосується кількості нірапарибу, яка призводить до запобігання або полегшення прогресування захворювання і прийнятної токсичності в людини.

Термін "композиція" стосується фармацевтичного препарату, що включає вказані інгредієнти, іноді в терапевтично ефективних кількостях, а також будь-якого препарату, який є прямим або непрямим результатом, комбінацій вказаних інгредієнтів у вказаних кількостях.

У цьому документі термін "фармацевтично прийнятний" стосується сполуки, матеріалів, композицій і/або лікарських форм, які в межах медичних знань придатні для використання в контакт з тканинами людей, не викликаючи надлишкової токсичності, подразнень, алергічної реакції або іншої проблеми або ускладнення, порівнянного з припустимим співвідношенням перевага/ризик. Кожен носій, допоміжна речовина тощо повинні бути "прийнятними" в сенсі сумісності з іншими інгредієнтами лікарської форми.

У контексті цього документа термін "андрогенний рецептор" включає андрогенний рецептор дикого типу, а також андроген-резистентний AR і/або мутанти AR, пов'язані з резистентним до кастрації раком передміхурової залози.

У цьому документі термін "антиандрогенний засіб" стосується групи сполук-антагоністів гормональних рецепторів, здатної запобігати біологічним впливам андрогенів на тканини організму з нормальною чутливістю або інгібувати їх. У деяких варіантах втілення антиандроген є малою молекулою. Антиандрогенні засоби включають ензалутамід, апалутамід і ацетат абіратерону.

У цьому документі термін "антиандрогенний засіб першого покоління" стосується агента, який проявляє антагоністичну активність проти поліпептиду AR дикого типу. Однак антиандрогенні засоби першого покоління відрізняються від антиандрогенних засобів другого покоління тим, що в разі застосування для лікування CRPC антиандрогенні засоби першого покоління потенційно можуть діяти як агоністи.

Приклади антиандрогенних засобів першого покоління включають, серед іншого, флутамід, нілутамід і бікалутамід.

У цьому документі термін "антиандрогенний засіб другого покоління" стосується агента, який проявляє повну антагоністичну активність проти поліпептиду AR дикого типу. Антиандрогенні засоби

другого покоління відрізняються від антиандрогенних засобів першого покоління тим, що антиандрогенні засоби другого покоління в клітинах, що експресують підвищені рівні AR, таких як, наприклад, клітини CRPC, діють як повні антагоністи. Приклади антиандрогенів другого покоління включають 4-[7-(6-ціано-5-трифторметилпіридин-3-іл)-8-оксо-6-тіоксо-5,7-діазаспіро[3.4]окт-5-ил]-2-фтор-N-метилбензамід (також відомий, як ARN-509; CAS № 956104-40-8); 4-(3-(4-ціано-3-(трифторметил)феніл)-5,5-диметил-4-оксо-2-тіоксоімідазолідин-1-іл)-2-фтор-N-метилбензамід (також відомий, як MDV3100 або ензалутамід; CAS № 915087-33-1) і RD162 (CAS № 915087-27-3). У деяких варіантах втілення антиандрогенний засіб другого покоління зв'язується з поліпептидом AR на ліганд-зв'язуючій ділянці поліпептиду AR або поблизу неї.

У контексті цього документа термін "антиандрогенний засіб третього покоління" стосується агента, який демонструє повну антагоністичну активність проти поліпептиду AR дикого типу й проти мутантних форм поліпептиду AR з мутаціями, що виникають у ліганд-зв'язувальному домені (LBD) поліпептиду AR, як зазначено нижче. Антиандрогенні засоби третього покоління відрізняються від антиандрогенних засобів першого покоління тим, що антиандрогенні засоби третього покоління в клітинах, що експресують підвищені рівні AR, таких як, наприклад, клітини CRPC, діють як повні антагоністи.

У контексті цього документа термін "мутант" стосується зміненої (порівняно з еталоном) нуклеїнової кислоти або поліпептиду, або клітини або організму, що містить або експресує таку змінену нуклеїнову кислоту або поліпептид.

У цьому документі, якщо не вказано інше, термін "впливати" або "на який впливає" (стосовно захворювання, синдрому, стану або порушення, на який впливає антагонізм AR) включає зменшення частоти й/або тяжкості одного або більше симптомів або проявів вказаного захворювання, синдрому, стану або порушення; і/або включає попередження розвитку одного або більше симптомів або проявів вказаного захворювання, синдрому, стану або порушення або розвитку цього захворювання, стану, синдрому або порушення.

Варіанти втілення цього винаходу включають проліки нірапарибу. Загалом, такі пролікарські засоби є функціональними похідними сполук, які легко перетворюються на необхідну сполуку *in vivo*. Таким чином, у варіантах втілення способів лікування або профілактики згідно з цим винаходом термін "введення" охоплює лікування або профілактику різних описаних захворювань, станів, синдромів і порушень із застосуванням конкретної розкритої сполуки або сполуки, яка не була конкретно розкрита, але яка після введення пацієнтові *in vivo* перетворюється на сполуку, що пропонується в цьому винаході. Загальноприйняті процедури відбору й приготування відповідних похідних пролікарських засобів описані, наприклад, у "Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

Андрогенний рецептор (AR)

Усередині клітин тканин-мішеней андрогени зв'язуються зі специфічним рецептором - андрогенним рецептором (AR). AR експресується в багатьох тканинах організму і є рецептором, за допомогою якого експресуються фізіологічні й патофізіологічні ефекти ендогенних андрогенних лігандів, таких як тестостерон (T) і дигідротестостерон (DHT). Структурно AR складається з трьох основних функціональних доменів: ліганд-зв'язувального домену (LBD), ДНК-зв'язувального домену й амінокінцевого домену. Сполука, що зв'язується з AR і імітує ефекти ендогенного AR-ліганду, називається агоністом AR, тоді як сполука, що інгібує ефекти ендогенного AR-ліганду, називається антагоністом AR. Зв'язування андрогена з рецептором активує його і спричиняє його зв'язування з ділянками зв'язування ДНК, суміжними з генами-мішенями. Звідти він взаємодіє зі співактиваторними білками й основними факторами транскрипції, щоб регулювати експресію гена. Таким чином, за допомогою свого рецептора андрогени викликають зміни в експресії генів у клітинах. Ці зміни в остаточному підсумку мають наслідки для метаболічного результату, диференціювання або проліферації клітин, що спостерігаються у фізіології тканини-мішені. У передміхуровій залозі андрогени стимулюють ріст тканини передміхурової залози й клітин раку передміхурової залози шляхом зв'язування з AR, присутнім у цитоплазмі чутливої до андрогенів тканини.

Сполуки, які селективно модулюють AR, мають клінічне значення для лікування або профілактики різних захворювань, станів і злоякісних захворювань, які включають, серед іншого, рак передміхурової залози, доброякісну гіперплазію передміхурової залози, гірсутизм у жінок, алопецію, нервову анорексію, рак молочної залози, акне, патологічні стани скелетно-м'язової системи, такі як захворювання кісток, патологічні стани гемопоєзу, нервово-м'язове захворювання, ревматологічне захворювання, рак, СНІД, кахексію; для замісної гормональної терапії (ЗГТ), для застосування в чоловічій контрацепції, для підвищення статевих функцій чоловіків, для лікування патологічних станів репродуктивної функції в чоловіків і первинного або вторинного гіпогонадизму в чоловіків.

Резистентний до кастрації рак передміхурової залози

Агенти, що блокують дію (антиандрогенні засоби) ендогенних гормонів (наприклад, тестостерону), є високоефективними й зазвичай застосовуються для лікування раку передміхурової залози (терапія андрогенної абляції). Хоча ці види терапії андрогенної абляції спочатку є ефективними в пригніченні росту пухлини, у кінцевому підсумку вони майже в усіх випадках виявляються неефективними, що призводить до виникнення CRPC. Більшість, але не всі клітини раку передміхурової залози спочатку

відповідають на антиандрогенну терапію. Однак з часом з'являються популяції клітин раку передміхурової залози, що вижили, оскільки реагували на вибірковий тиск, який створювала терапія андрогенної абляції, і наразі стали стійкими до такої терапії. Первинний рак не тільки стає стійким до доступних методів лікування, а й ракові клітини можуть відділятися від первинної пухлини й переміщатися з током крові, що спричиняє розповсюдження захворювання у віддалені ділянки (особливо в кістки). Це відомо як метастатичний резистентний до кастрації рак передміхурової залози (mCRPC). Серед інших ефектів це викликає значний біль і подальшу ламкість кісток у суб'єкта.

У деяких варіантах втілення рак передміхурової залози суб'єкта є резистентним до антиандрогенних засобів, які включають, серед іншого, ензалутамід, апалутамід і ацетат абіратерону, або не відповідає на лікування такими засобами ("резистентність до антиандрогенних засобів").

Препарат нірапариб, 2-[4-[(3S)-піперидин-3-іл]феніл]індазол-7-карбоксамід, описаний у патенті США № 8,071,623, виданому 6 грудня 2011 р. під назвою "Amide Substituted Indazoles as Poly(ADP-Ribose)Polymerase (PARP) Inhibitors", який заявляє про встановлення переваги щодо попередньої заявки на патент США № 60/921,310, поданої 16 лютого 2010 р., а також у патенті США № 8,436,185, виданому 7 травня 2013 р. під назвою "Pharmaceutically Acceptable Salts of 2-[4-[(3S)-piperidin-3-yl]phenyl]-2H-indazole-7-carboxamide", який заявляє про встановлення переваги щодо попередньої заявки на патент США № 61/010,333, поданої 8 січня 2008 р., кожен із яких включений у цей документ шляхом посилання.

У винаході також запропоновано фармацевтичні композиції, які містять нірапариб і фармацевтично прийнятний носій. Фармацевтичні композиції, які містять активний інгредієнт, можуть бути у формі, придатній для перорального застосування, наприклад у вигляді таблеток, пастилок, льодяників, водних або масляних суспензій, дисперсних порошків або гранул, емульсій, твердих або м'яких капсул, або сиропів, або еліксирів.

Композиції, призначені для перорального застосування, можуть бути отримані відповідно до будь-якого відомого в цій галузі способу виробництва фармацевтичних композицій, і такі композиції можуть містити один або більше агентів, які вибирають із групи, що складається з підсолоджувачів, ароматизаторів, барвників і консервантів, для забезпечення препаратів, що мають відмінні фармацевтичні й смакові характеристики. Таблетки містять активний інгредієнт у суміші з нетоксичними фармацевтично прийнятними допоміжними речовинами, придатними для виготовлення таблеток. Ці допоміжні речовини можуть являти собою, наприклад, інертні розріджувачі, такі як карбонат кальцію, карбонат натрію, лактоза, фосфат кальцію або фосфат натрію; агенти для гранулювання й розпушувачі, такі як мікрокристалічна целюлоза, кроскармелози натрієва сіль, кукурудзяний крохмаль або альгінова кислота; зв'язувальні агенти, наприклад крохмаль, желатин, полівінілпіролідон або аравійська камедь, і ковзні речовини, наприклад магнію стеарат, стеаринова кислота або тальк. Таблетки можуть не мати покриття або можуть бути покриті оболонкою з використанням відомих способів для маскування неприємного смаку лікарського засобу або для уповільнення дезінтеграції й абсорбції в шлунково-кишковому тракті й, таким чином, забезпечення безперервної дії протягом більш тривалого періоду. Наприклад, можна використовувати водорозчинний матеріал, що маскує смак, такий як гідроксипропілметилцелюлоза або гідроксипропілцелюлоза, або матеріал для затримки дії за часом, такий як етилцелюлоза, ацетатбутират целюлози.

Лікарські форми для перорального застосування також можуть бути представлені у вигляді твердих желатинових капсул, у яких активний інгредієнт змішаний з інертним твердим розріджувачем, наприклад карбонатом кальцію, фосфатом кальцію або каоліном, або у вигляді м'яких желатинових капсул, у яких активний інгредієнт змішаний з водорозчинним носієм, таким як поліетиленгліколь або масляне середовище, наприклад арахісова олія, рідкий парафін або оливкова олія.

Водні суспензії містять активний матеріал у суміші з допоміжними речовинами, придатними для виробництва водних суспензій. Такі допоміжні речовини являють собою суспендувальні агенти, наприклад карбоксиметилцелюлозу натрію, метилцелюлозу, гідроксипропілметилцелюлозу, альгінат натрію, полівінілпіролідон, трагакантову камедь і аравійську камедь; агенти для диспергування або зволожувальні агенти можуть бути природними фосфатидами, наприклад лецитином, або продуктами конденсації алкіленоксиду з жирними кислотами, наприклад поліоксіетиленстеаратом, або продуктами конденсації етиленоксиду з довголанцюговими аліфатичними спиртами, наприклад гептадекаетиленоксидетаналем, або продуктами конденсації етиленоксиду з неповними естерами, отриманими з жирних кислот і гекситу, такими як моноолеат поліоксіетиленсорбіту, або продуктами конденсації етиленоксиду з неповними естерами, отриманими з жирних кислот і ангідридів гекситу, наприклад моноолеатом поліетиленсорбітану. Водні суспензії також можуть містити один або більше консервантів, наприклад етил або н-пропіл, п-гідроксибензоат, один або більше барвників, один або більше ароматизаторів і один або більше підсолоджувачів, таких як сахароза, сахарин або аспартам.

Масляні суспензії можуть бути введені до складу лікарської форми шляхом суспендування активного інгредієнта в рослинній олії, наприклад арахісовій олії, оливковій олії, кунжутній олії або кокосовій олії, або в мінеральній олії, такий як рідкий парафін. Масляні суспензії можуть містити

загусник, наприклад бджолиний віск, твердий парафін або цетиловий спирт. Для одержання приємного на смак препарату для перорального застосування можуть бути додані підсолоджувачі, такі як ті, що були вказані вище, і ароматизатори. Ці композиції можуть зберігатися за допомогою додавання антиоксиданту, такого як бутильований гідроксіанізол або альфа-токоферол.

Дисперговані порошки й гранули, придатні для одержання водної суспензії шляхом додавання води, забезпечують активний інгредієнт у суміші з агентом для диспергування або зволожувальним агентом, суспендувальним агентом і одним або більше консервантами. Приклади придатних агентів для диспергування або зволожувальних агентів і суспендувальних агентів вже були згадані вище. Також можуть бути присутні додаткові допоміжні речовини, наприклад підсолоджувачі, ароматизатори й барвники. Ці композиції можуть зберігатися за допомогою додавання антиоксиданту, такого як аскорбінова кислота.

Фармацевтичні композиції за цим винаходом також можуть бути у вигляді емульсії "олія у воді". Масляною фазою може бути рослинна олія, наприклад оливкова олія або арахісова олія, або мінеральна олія, наприклад рідкий парафін, або їхні суміші. Придатні емульгатори можуть бути природними фосфатидами, наприклад соєвим лецитином, і естерами або неповними естерами, отриманими з жирних кислот і ангідридів гекситу, наприклад моноолеатом сорбітану, і продуктами конденсації вказаного неповного естеру з етиленоксидом, наприклад моноолеатом поліоксіетиленсорбітану. Емульсії також можуть містити підсолоджувачі, ароматизатори, консерванти й антиоксиданти.

До складу сиропів і еліксирів можуть бути введені підсолоджувачі, наприклад гліцерин, пропіленгліколь, сорбіт або сахароза. Такі лікарські форми можуть також містити засіб, що зменшує подразнення, консервант, ароматизатор, барвники й антиоксидант. Фармацевтичні композиції можуть бути у формі стерильного водного розчину для ін'єкцій. До прийнятних наповнювачів лікарської форми та розчинників, що можуть застосовуватися, належать вода, розчин Рінгера й ізотонічний розчин хлориду натрію.

Стерильний препарат для ін'єкцій також може являти собою стерильну мікроемульсію для ін'єкцій типу "олія у воді", де активний інгредієнт розчиняється в олійній фазі. Наприклад, активний інгредієнт можна спочатку розчинити в суміші соєвої олії й лецитину. Потім олійний розчин вводять у суміш води й гліцерину й обробляють з утворенням мікроемульсії.

Розчини для ін'єкцій або мікроемульсії можна вводити в кровотік пацієнта шляхом місцевої болюсної ін'єкції. Альтернативно, перевагою може бути введення розчину або мікроемульсії таким чином, щоб підтримувати постійну циркулюючу концентрацію розчинної сполуки. Для підтримання такої постійної концентрації можна використовувати пристрій для безперервної внутрішньовенної доставки. Прикладом такого пристрою може бути внутрішньовенний насос Deltec CADD-PLUS™ моделі 5400.

Фармацевтичні композиції можуть бути у формі стерильного водного розчину або маслянистої суспензії для ін'єкцій, призначених для внутрішньом'язового або підшкірного введення. Цю суспензію можна приготувати відповідно до відомого рівня техніки з використанням тих придатних агентів для диспергування або зволожувальних агентів і суспендувальних агентів, які були згадані вище. Стерильним препаратом, який вводять шляхом ін'єкції, може також бути стерильний розчин, який вводять шляхом ін'єкції, або суспензія у нетоксичному парентерально прийнятному розріджувачі або розчиннику, наприклад у вигляді розчину в 1,3-бутандіолі. Крім того, у якості розчинника або суспендуючого засобу традиційно застосовують стерильні жирні олії. Для цього можна використовувати будь-яку легку жирну олію, у тому числі синтетичні моно- або дигліцериди. Крім того, у приготуванні препаратів, які вводять шляхом ін'єкції, використовують такі жирні кислоти, як олеїнова кислота.

Нірапариб можна також вводити у формі супозиторіїв для введення лікарського засобу в пряму кишку. Ці композиції можна приготувати шляхом змішування лікарського засобу з придатною не подразнюючою допоміжною речовиною, яка є твердою за звичайних температур, але стає рідкою за ректальної температури, а отже, розтоплюється в прямій кишці й вивільняє лікарський засіб. Такі матеріали включають какао-масло, гліцеринований желатин, гідрогенізовані рослинні олії, суміші поліетиленгліколів різної молекулярної маси й естерів жирних кислот і поліетиленгліколю.

Для місцевого застосування використовують креми, мазі, гелі, розчини або суспензії тощо, які містять розчинні сполуки. (Для цілей цієї заявки місцеве застосування включає полоскання для ротової порожнини й полоскання для горла).

Нірапариб можна вводити в інтраназальній формі за допомогою місцевого застосування відповідних інтраназальних носіїв і засобів доставки або трансдермальними шляхами, використовуючи такі форми трансдермальних шкірних пластрів, які добре відомі середнім фахівцям у цій галузі. Для введення у вигляді трансдермальної системи доставки введення дози має бути, звичайно, постійним, а не періодичним протягом усього призначеного курсу введення лікарського засобу. Нірапариб можна також доставляти у вигляді супозиторія з використанням основ, таких як какао-масло, гліцеринований желатин, гідрогенізовані рослинні олії, суміші поліетиленгліколів різної

молекулярної маси й естерів жирних кислот і поліетиленгліколю.

Коли нірапариб вводять суб'єктові, вибраний рівень дози буде залежати від різних чинників, які включають, серед іншого, активність конкретної сполуки, тяжкість симптомів у індивідуума, шлях введення, час введення, швидкість виведення сполуки, тривалість лікування, застосування в комбінації з іншими лікарськими засобами, сполуками й/або матеріалами, вік, стать, масу тіла, стан, загальне самопочуття й попередню історію хвороби пацієнта. Рішення щодо кількості нірапарибу й шляху його введення буде, у кінцевому підсумку, залежати від рішення лікаря, хоча зазвичай доза повинна бути такою, щоб досягати місцевих концентрацій у місці дії, які дозволяють досягати бажаного ефекту, не викликаючи істотних небезпечних або шкідливих побічних ефектів.

Введення *in vivo* можна здійснювати однією дозою, безперервно або періодично (наприклад, розділеними дозами з відповідними інтервалами) протягом курсу лікування. Способи визначення найбільш ефективних засобів введення й доз добре відомі фахівцям у цій галузі й варіюються залежно від композиції, яку використовують для терапії, мети терапії, клітини-мішені, що піддається лікуванню, і суб'єкта, якого лікують. Одноразове або багаторазове введення можна виконувати з використанням рівня дози й схеми, вибраної лікуючим лікарем.

Зазвичай відповідна доза нірапарибу перебуває в діапазоні від приблизно 100 мкг до приблизно 250 мг на кілограм маси тіла суб'єкта за добу. Коли активна сполука являє собою сіль, естер, проліки тощо, кількість сполуки, що вводиться, розраховують на основі вихідної сполуки, і, таким чином, фактично застосовувана маса пропорційно збільшується.

Терапевтично ефективна кількість нірапарибу або його фармацевтичної композиції для лікування раку передміхурової залози включає діапазон дози від приблизно 30 мг/доба до приблизно 400 мг/доба нірапарибу або будь-яку конкретну кількість або діапазон у цих межах, зокрема приблизно 300 мг/доба, і прийом всередину один раз на добу трьох доз по 100 мг лікарських форм для перорального введення.

Оптимальні дози нірапарибу для введення можна легко визначити; вони змінюються залежно від конкретної використовуваної сполуки, способу введення, концентрації препарату й ступеня розвитку захворювання, синдрому, стану або порушення. Крім того, чинники, пов'язані з конкретним суб'єктом, що підлягає лікуванню, які включають стать, вік, масу тіла, режим харчування суб'єкта й час уведення, зумовлюють необхідність коригування дози для досягнення належного терапевтичного рівня й бажаного терапевтичного ефекту. Таким чином, наведені вище дози є характерними для середнього випадку. Можуть існувати, звичайно, окремі випадки, у яких необхідні вищі або нижчі діапазони доз, і такі випадки входять до обсягу цього винаходу.

Нірапариб можна вводити в будь-якій із наведених вище композицій і схем дозування або за допомогою композицій і схем дозування, прийнятих у цій галузі, завжди, коли застосування нірапарибу необхідне для суб'єкта, який потребує цього.

ПРИКЛАДИ

Подані нижче приклади наведено для полегшення розуміння винаходу, і вони не призначені й не повинні бути витлумачені як обмежуючі будь-яким чином винахід, викладений у формулі винаходу, яка наведена нижче.

Приклад 1

Цитотоксичність нірапарибу *in vitro* в лініях пухлини передміхурової залози людини

Цитотоксичність нірапарибу досліджували в декількох лініях пухлини передміхурової залози людини *in vitro*. Відомо, що жодна з пухлинних ліній не має дефіциту BRCA-1 або BRCA-2.

Способи

Цитотоксичність нірапарибу *in vitro* оцінювали в 5 клітинних лініях раку передміхурової залози людини: C4-2B, LNCaP, LNCaP AR.TB, VCaP і 22Rv1. Клітинні лінії C4-2B, LNCaP, LNCaP AR.TB і 22Rv1 культивували в середовищі RPMI1640+GlutaMAX™-I (Life Technologies № 61870-036) з додаванням 10 % інактивованої нагріванням фетальної бичачої сироватки (ФБС) (Life Technologies № 16140-071) і замісних амінокислот (ЗАК) (Life Technologies № 11140-050); а клітини VCaP культивували в середовищі Ігла, модифікованому згідно зі способом Дульбекко (DMEM) + GlutaMAX™-I (Life Technologies №10569-010) з додаванням 10 % ФБС і ЗАК. Клітини VCaP пересівали кожні 7 днів; інші лінії кожні 3-4 дні розділяли.

Кінетику росту клітин кожної клітинної лінії визначали шляхом висівання клітин у декількох концентраціях з регулярним відстеженням росту з інтервалами до 7 днів. Ріст визначали з використанням реагенту Promega Cell TiterGlo (№ G7571) для вимірювання АТФ у клітинах за допомогою хемілюмінесцентної реакції люциферину й люциферази. Планшети зчитували на спектрофотометрі для зчитування планшетів Perkin-Elmer Envision, і показники люмінесценції наносили на графік, щоб ідентифікувати концентрації для посівів, які призводили до фази логарифмічного росту й до щільності клітин в межах лінійного діапазону в аналізі Cell TiterGlo в заданий момент часу.

В експериментах з цитотоксичності нірапарибу клітини збирали шляхом короткої трипсинізації, і кожну лінію висівали у внутрішні 60 ямок 96-ямкових планшетів у 100 мкл середовища з відповідною

щільністю для 7-денної обробки. Зовнішні ямки кожного планшета заповнювали фосфатно-сольовим буферним розчином Дульбекко (ДФБР; Life Technologies № 14190-144), щоб зменшити випаровування з аналітичних ямок. Клітини залишали на ніч у планшетах за температури 37 °C у зволоженому інкубаторі з 5 % CO₂. Обробку починали з додавання 50 мкл 3-кратного розведення нірапарибу (кінцеві концентрації 500, 125, 31,3, 7,8, 1,95, 0,49, 0,12, 0,03 мкМ) у відповідне середовище в ямки в трьох повторах. Кінцева концентрація носія становила 0,5 % ДМСО.

Клітини культивували протягом 7 днів. Відносну життєздатність клітин після обробки визначали з використанням реагенту Cell TiterGlo, як зазначено вище. Усі вихідні показники люмінесценції були нормалізовані до процентного інгібування на основі середньої люмінесценції необроблених контрольних ямок, і з кожного показника для обробки віднімали середнє процентне інгібування контрольних ямок з носієм. Відсоток інгібування наносили на графік залежності від log концентрації в мкМ у програмному забезпеченні GraphPad Prism 7.00. Нелінійну регресію й обчислення значень EC₅₀ виконували з використанням логарифмічного коефіцієнта (агоніста) залежно від відповіді - апроксимація змінного нахилу (за чотирма параметрами).

Результати

Результати аналізу цитотоксичності показано на Фіг. 1 і в таблиці 1. Розвиток кожної клітинної лінії знижувався дозозалежним способом шляхом збільшення концентрації нірапарибу. Клітини C4-2B виявилися найбільш чутливими, причому значення EC₅₀ становило ~ 1,2 мкМ. Клітини VCaP виявилися найменш чутливими зі значенням EC₅₀ ~ 4,1 мкМ.

Таблиця 1

Значення EC₅₀ для 7-денної обробки
нірапарибом клітинних ліній пухлини передміхурової залози людини

Клітинна лінія	EC ₅₀ (мкМ)
C4-2B	1,222
LNCaP	3,502
LNCaP AR.TB	2,140
VCaP	4,099
22Rv1	3,517

Приклад 2

Інгібування утворення PAR нірапарибом

Здатність нірапарибу інгібувати утворення полі(АДФ)рибози (PAR) досліджували in vitro у двох лініях пухлини передміхурової залози людини. Відомо, що жодна з пухлинних ліній не має дефіциту BRCA-1 або BRCA-2.

Способи

Інгібування PAR з використанням нірапарибу досягли в 2 клітинних лініях раку передміхурової залози людини: C4-2B і VCaP. Клітинну лінію C4-2B культивували в середовищі RPMI1640+GlutaMAX™-I з додаванням 10 % ФБС і ЗАК і розділяли кожні 3-4 дні. Клітини VCaP культивували в середовищі DMEM+GlutaMAX™-I з додаванням ФБС і ЗАК і пересівали кожні 7 днів.

Клітини збирали шляхом короткої трипсинізації, і кожну лінію висівали у 6-ямкові планшети в 1 мл середовища з відповідною щільністю. Додавали додаткові 500 мкл повного середовища до досягнення загального об'єму в кожній ямці 1,5 мл. Клітини залишали на ніч у планшетах за температури 37 °C у зволоженому інкубаторі з 5 % CO₂. Наступного дня видаляли з планшетів середовище й промивали клітини з використанням 1 мл безсироваткового середовища (RPMI або DMEM відповідно). Обробку починали з додавання 1 мл нірапарибу (кінцеві концентрації 100, 10, 1, 0,1, 0,01 і 0 мкМ у 0,1 %-му ДМСО) у відповідне середовище в ямки в трьох повторах. Планшети повертали в інкубатор на дві години.

Після обробки готували екстракти з використанням реагентів і процедур, передбачених у високопродуктивному (HT) фармакодинамічному аналізі II PARP in vivo (Trevigen № 4520-096-K). З кожної ямки видаляли середовище й поміщали в окремі мічені мікроцентрифужні пробірки, а планшети поміщали на лід. Пробірки центрифугували за швидкості 1500 об/хв протягом 4 хвилин для осадження всіх клітин, які відокремилися від планшета під час інкубації з лікарським засобом. Буфер для лізису готували з використанням 24,5 мл реагенту для лізису клітин з 250 мкл 100 мМ фенолметилсульфонілфториду (PMSF) (в етанолі; Sigma № 93482) і 250 мкл 100X суміші інгібіторів протеази (Thermo Scientific № 78429). У кожну ямку планшетів додавали на льоду буфер для лізису (300 мкл). Агезивні клітини зіскрібали в буфер для лізису й витримували на льоду протягом принаймні 15 хвилин. Із пробірок для мікроцентрифугування видаляли супернатант, і лізати клітин з 6-ямкових планшетів додавали в кожну з відповідних пробірок. Додавали додецилсульфат натрію (SDS)

(20 % мас./об.) з доведенням кінцевої концентрації SDS до 1 %. Клітинні екстракти нагрівали до 95-100 °C протягом 5 хвилин. Після охолодження до кімнатної температури в кожну пробірку додавали 0,01 об'єму 100 X розведення катіона магнію й 3 мкл ДНКази. Пробірки короточасно струшували й повертали в інкубатор за 37 °C на 90 хвилин. Після інкубування пробірки центрифугували з прискоренням 10 000 g протягом 10 хвилин за кімнатної температури. У разі наявності осаду його видаляли з використанням наконечника піпетки й переносили екстракти в 96-ячковий планшет для розведення. Клітинні екстракти заморожували за -80 °C і зберігали до використання для кількісного визначення білка й аналізу PAR ELISA. Протокол аналізу ELISA виконували відповідно до інструкцій виробника.

Кількісне визначення білка проводили з використанням набору II для аналізу білка Biorad DC, сумісного з детергентом (№ 500-0002), і зі стандартним набором альбуміну бичачої сироватки Biorad Quick Start (№ 5000207) відповідно до протоколу виробника для 96-ячкового планшета. Буфер для лізису для аналізу ELISA додавали в стандарти, і в усі лунки для всіх зразків додавали однаковий об'єм фосфатно-сольового буферного розчину (ФБР) для корекції будь-якого впливу буфера для лізису на показання білка. Аналіз зразків виконували у двох повторах. До всіх ямок у планшеті додавали буфер А" (25 мкл), і до кожної ямки негайно додавали 200 мкл буфера В. Планшети інкубували протягом 15 хвилин за кімнатної температури в струшувачі. Абсорбцію визначали за довжини хвилі 750 нм на спектрофотометрі для зчитування планшетів Molecular Devices M5 з використанням протоколу аналізу білка DC за допомогою програмного забезпечення SoftMax Pro версії 6.3. Лінійну регресію стандартної кривої, інтерполяцію значень для зразків білка й усереднення для повторів виконували за допомогою програмного забезпечення. Дані експортували в програму Excel, де виконували будь-які коригування на розведення зразка.

Значення люмінесценції PAR ELISA для стандартів і зразків аналізували за допомогою програмного забезпечення GraphPad Prism версії 7, де розраховували лінійну регресію стандартної кривої й виконували інтерполяцію значень зразків. Інтерпольовані значення PAR (пг PAR/мл) коригували на розведення зразка й ділили на відповідну концентрацію білка, щоб отримати значення пг PAR/мг білка. Ці показники наносили на графік за допомогою програмного забезпечення GraphPad Prism версії 7.

Результати

Результати аналізу PAR представлені на Фіг. 2. Рівень PAR знижувався дозозалежним способом у разі збільшення концентрації нірапарибу в кожній клітинній лінії.

Приклад 3

Нірапаріб індукує γ -H2AX у лініях пухлини передміхурової залози людини *in vitro*

Здатність нірапарибу індукувати розриви у двох ланцюгах ДНК вимірювали в 3 клітинних лініях раку передміхурової залози людини: 22RV1, LNCaP AR.TB і C4-2B. Розриви у двох ланцюгах ДНК супроводжуються фосфорилуванням суміжного гістона γ -H2AX, і це фосфорилування можна виміряти за забарвленням антитіл і за допомогою проточної цитометрії.

Способи

Клітинні лінії 22RV1, LNCaP AR.TB і C4-2B культивували так, як описано вище. Клітинні лінії пересівали кожні 3-4 дні.

Для кожної клітинної лінії виконували посів 2×10^5 клітин у кожну ямку 12-ячкового планшета (Falcon № 353043) у середовище об'ємом 1 мл. Клітини залишали на ніч у зволоженому інкубаторі з 5 % CO₂ за 37 °C, потім до ямок у трьох повторах додавали 1 мл середовища, що містило 2-кратне розведення концентрованого серійно розведеного нірапарибу для досягнення кінцевих концентрацій 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13, 1,57, 0,78, 0,39, 0,2 і 0,1 мкМ. Кінцева концентрація носія становила 0,2 % ДМСО, і для кожної клітинної лінії були також отримані результати контролів у вигляді носія й середовища з ямок у трьох повторах. Планшети інкубували протягом додаткових 18 годин.

Після 18-годинної інкубації з лікарським засобом збирали клітини з кожної ямки з клітинами, для чого спочатку переносили 2 мл середовища в конічну колбу на 15 мл (Corning № 430798). Потім у ямку додавали 500 мкл буфера для дисоціації клітин (Gibco № 13151-014) і залишали на 5 хвилин. За допомогою піпетки об'ємом 1 мл до ямки додавали 1 мл середовища, клітини зрушували піпеткою й середовище з клітинами переносили у відповідну конічну пробірку на 15 мл. Пробірки центрифугували за 1200 об/хв протягом 5 хвилин, супернатант викидали, осаджені клітини повторно суспендували й переносили в 96-ячковий планшет з v-подібним дном (Costar № 3896). Планшети центрифугували за 1800 об/хв протягом 3 хвилин, супернатант викидали, після чого ямки промивали з використанням 200 мкл ДФБР. Цей процес повторювали до досягнення в цілому 3 промивань. Після цього клітини забарвлювали протягом 20 хвилин за 4 °C з використанням 100 мкл ДФБР, що містив рідкий реагент для забарвлення живих/мертвих клітин Invitrogen Live/Dead fixable aqua (Invitrogen № L34957) у розведенні 1: 800. Після цього клітини промивали з використанням 150 мкл буфера для забарвлення BD Pharmingen (буфер для забарвлення; BD № 554657) і центрифугували за 1800 об/хв протягом 3 хвилин. Клітини знову промивали 2 рази з використанням 200 мкл буфера для забарвлення, а потім один раз з використанням ДФБР.

Клітини фіксували за допомогою 100 мкл -20 °C 70 % етанолу/H₂O й зберігали планшети за -20 °C протягом 2 годин. Клітини промивали 3 рази, причому між кожним промиванням проводили центрифугування з буфером для забарвлення за 2200 об/хв протягом 3 хвилин. Потім клітини інкубували зі 100 мкл буфера для забарвлення в розведенні 1: 1 і блокатором Fc-рецептора, що не містить біотину, AXELL (Accurate Chemical & Scientific Corp № NB309) протягом 20 хвилин за 4 °C. Клітини промивали з використанням 150 мкл буфера для забарвлення, після чого центрифугували за 2200 об/хв протягом 3 хвилин, супернатант викидали, після чого клітини інкубували з 50 мкл буфера для забарвлення, що містив 0,2 % об./об. тритон X-100 (Acros Organics № 21568-2500), протягом 2 годин за кімнатної температури в темряві разом із антитілом γ -H2AX у розведенні 1: 100 (Biolegend № 613408).

Клітини промивали один раз із використанням 200 мкл буфера для забарвлення, що містив 0,2 % об./об. тритон X-100, а потім промивали один раз з використанням тільки 200 мкл буфера для забарвлення. Клітини повторно суспендували у 80 мкл буфера для забарвлення й проводили аналіз 50 мкл на проточному цитометрі BD Fortessa. Дані аналізували за допомогою програмного забезпечення TreeStar FlowJo версії 9.8.5. Дані збирали на живих клітинах, а потім після дублетної дискримінації всю популяцію оцінювали на сигнал антитіла γ -H2AX. Результати наносили на графік за допомогою програмного забезпечення GraphPad Prism версії 7.

Результати

Репрезентативні гістограми для клітинної лінії 22RV1, показані на Фіг 3, зображують вплив різних концентрацій нірапарibu. Зразки, оброблені лікарським засобом, порівнювали з контрольними носіями й середовищами, і ці дані представлені у вигляді графіків на Фіг. 4. Найнижчі концентрації, за яких рівень сигналу γ -H2AX значно перевищував рівні контрольного носія, вказані в таблиці 2. Результати показують, що в кожній лінії пухлини передміхурової залози нірапарibu індукує γ -H2AX дозозалежним способом.

Таблиця 2

Мінімальна концентрація нірапарibu, що індукує значущу зміну в γ -H2AX

Клітинна лінія	1-ша значуща концентрація (мкМ)
22RV1	1,57
LnCaP.AR.TB	3,13
C4-2B	1,57

Приклад 4

Нірапарibu інгібує ріст пухлин передміхурової залози C4-2B людини у мишей

Активність нірапарibu досліджували на попередньо встановленій підшкірній моделі пухлини передміхурової залози C4-2B у мишей з діабетом без ожиріння (NOD) з тяжким комбінованим імунodefіцитом (SCID)-гамма (NOD.Cg-Prkdc Il2rg/SzJ) (NSG). Вважають, що ця модель пухлини не має дефіциту BRCA-1 або BRCA-2.

Способи

Носій являв собою 0,5 %-ну метилцелюлозу (Methocel™ F4M), яку готували й зберігали за 4 °C у темряві. Усі композиції були виготовлені для введення дози в об'ємі 10 мл/кг маси тіла. Використовували самців мишей NSG (Jackson Laboratories). Тварин привчали до умов протягом одного тижня перед виконанням будь-яких експериментальних процедур. Мишей розміщували групами (по 5 на клітку) в одноразові клітки з індивідуальною вентиляцією (IVC) (Innovive, м. Сан-Дієго, штат Каліфорнія, США) в умовах 12-годинного циклу світла й темряви, за температури 19-22 °C і вологості 35-40 %. Мишей годували обробленим у автоклаві кормом для лабораторних тварин з високим вмістом жиру (6 %) і давали необмежений доступ до води.

Мишам у правий бік вводили ін'єкцію мічених клітин LNCaP C4-2B-luc (1×10^6 пухлинних клітин у об'ємі 200 мкл Cultrex®: середовище RPMI 1640 (співвідношення 1: 1). Виконували рандомізацію мишей залежно від об'єму пухлини (об'єм пухлини = 241 ± 14 мм³), по 10 мишей на групу за варіантом лікування. Мишам щоденно вводили через зонд (перорально) або носій, або носій з нірапарibu, як вказано нижче, в об'ємі 10 мл/кг. Початок лікування = день 1. Мишей лікували до дня 24 дослідження.

Група 1	введення 0 мг/кг носія (0,5 % Methocel F4M) перорально один раз на добу.
Група 2	введення 25 мг/кг нірапарibu в 0,5 % Methocel F4M перорально один раз на добу.
Група 3	введення 50 мг/кг нірапарibu в 0,5 % Methocel F4M перорально один раз на добу.

У кожної окремої тварини масу тіла й об'єм пухлини [з використанням формули: Об'єм пухлини

(мм3) = $(a \times b^2 / 2)$; де а представляє довжину, а b - ширину пухлини, визначену за допомогою товщиноміра] вимірювали двічі на тиждень протягом усього дослідження. Для попередньо встановлених пухлин час росту пухлини виражають як середнє значення $\pm$ стандартна похибка середнього (СПС).

Результати

Миші, яким вводили носій, почали досягати етичних меж об'єму пухлини приблизно на 22-й день дослідження (див. Фіг. 5 щодо індивідуальних об'ємів пухлини). Дані про об'єм пухлини були представлені до 24-го дня дослідження (коли в дослідженні залишалися 9 із 10 мишей, що отримували носій). Після 18, 22 і 24 днів лікування у тварин із групи 3, яким щодня перорально вводили 50 мг/кг нірапарибу, спостерігалось значуще інгібування/затримка росту пухлини, причому показники інгібування росту пухлини (ІРП) у ці дні становили $\sim 40\%$. Значні відмінності розвитку пухлин спостерігали в дні 18, 22 і 24 (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$). У мишей, яким вводили 25 мг/кг нірапарибу, не відбувалося значного інгібування росту пухлини, хоча на дні 22 і 24 спостерігалось ІРП $\sim 12\%$.

Приклад 5

Проводиться багатоцентрове відкрите дослідження з метою оцінки ефективності й безпечності застосування нірапарибу в дозі 300 мг один раз на добу в суб'єктів чоловічої статі у віці понад 18 років з mCRPC і аномаліями репарації ДНК, які пройшли лікування принаймні однією лінією хіміотерапії на основі таксанів і принаймні однією лінією терапії антиандрогенними засобами (наприклад, ацетатом абіратерону, ензалутамідом, апалутамідом). У дослідженні беруть участь приблизно 100 суб'єктів. За безпекою суб'єктів регулярно спостерігають протягом періоду дослідження й до 30 днів після застосування останньої дози досліджуваного лікарського засобу. Лікування триває до настання прогресування захворювання, неприйнятної токсичності, смерті або припинення дослідження спонсором.

Дослідження повинно складатися з 4 фаз: фази попереднього скринінгу тільки для оцінки біомаркерів, фази скринінгу, фази лікування й фази подальшого спостереження. Оцінки ефективності включають таке: вимірювання пухлини: комп'ютерна томографія (КТ) органів грудної, черевної й тазової порожнин або магнітно-резонансна томографія (МРТ) і сканування кісток скелета (^{99m}Tc), аналіз на простат-специфічний антиген (ПСА) у сироватці, статус виживання, аналіз на циркулюючі пухлинні клітини (ЦПК) і симптомні явища з боку скелетної системи (СЯС).

Нірапаріб у дозі 300 мг необхідно видавати в капсулах (3×100 мг) для прийому всередину один раз на добу. Капсули потрібно ковтати цілими. Суб'єкти повинні приймати свою дозу препарату в ранковий час (незалежно від прийому їжі). Хоча це і не вважається досліджуваним лікарським засобом, суб'єкти, яким не проводили хірургічну кастрацію, повинні продовжувати регулярне застосовування призначеного антагоніста гормону, що вивільняє гонадотропін (GnRHa). Усі лікарські засоби GnRHa потрібно реєструвати в розділі супутнього медикаментозного лікування в електронній індивідуальній реєстраційній карті (eIPK).

Тривалість циклу лікування визначена як 28 днів. Суб'єкти повинні починати прийом нірапарибу в день 1 циклу 1. У перший день кожного циклу необхідно видавати достатні кількості нірапарибу для кожного циклу лікування. Якщо суб'єкти пропустили прийом препарату, вони повинні прийняти його, якщо згадали про пропущену дозу не пізніше ніж через 12 годин. В іншому випадку суб'єкти повинні прийняти наступну дозу наступного дня без компенсації пропущеної дози. Пропущену дозу слід зареєструвати в eIPK.

Фаза попереднього скринінгу для оцінки біомаркерів

Під час фази попереднього скринінгу проводять оцінку наявності в потенційного суб'єкта позитивного результату аналізу на біомаркери аномалій репарації ДНК. Усім суб'єктам потрібно підписати спеціальну форму інформованої згоди (ФІЗ) на участь у фазі попереднього скринінгу й надати вихідні демографічні характеристики й історію конкретного досліджуваного захворювання. Фаза попереднього скринінгу може бути проведена в будь-який час перед фазою скринінгу.

Процес визначення наявності біомаркерів у суб'єктів, які входять у фазу попереднього скринінгу до отримання результатів аналізу по крові, порівняно з тими суб'єктами, які входять у фазу попереднього скринінгу після отримання результатів аналізу по крові, повинен відрізнятися. Ці 2 процеси описано нижче.

Процес визначення наявності біомаркерів до отримання результатів аналізу по крові

Суб'єкт підписує ФІЗ на попередній скринінг. Якщо раніше суб'єкту виконували аналіз пухлинної тканини на набір генів FoundationOne®, тоді після того, як суб'єкт дозволить передачу інформації, дані FoundationOne® можна перевірити з визначенням відповідності суб'єкта критеріям участі, ґрунтуючись на критеріях, наведених у таблиці 1. Якщо результати аналізу вказують на наявність біомаркерів у суб'єкта, то суб'єкт вважається придатним для вступу до фази скринінгу. Якщо раніше суб'єкту не виконували аналіз пухлинної тканини на набір генів FoundationOne®, потрібно виконати аналіз архівної або нещодавно взятої (рекомендується) пухлинної тканини на наявність біомаркерів за допомогою аналізу, затвердженого спонсором. Якщо результати аналізу вказують на наявність

біомаркерів у суб'єкта, то суб'єкт вважається придатним для вступу до фази скринінгу.

У всіх суб'єктів під час фази попереднього скринінгу також необхідно взяти зразки крові й зберігати їх до отримання результатів аналізу по крові. Після отримання результатів аналізу по крові збережені зразки крові необхідно проаналізувати на відповідність результатам аналізу пухлинної тканини. Ці аналізи можна виконувати в будь-який час після отримання результатів аналізу по крові.

Процес визначення наявності біомаркерів після отримання результатів аналізу по крові

Суб'єкт підписує ФІЗ на попередній скринінг. У суб'єкта беруть кров і відправляють на аналіз на наявність біомаркерів. Якщо раніше суб'єкту виконували аналіз пухлинної тканини на набір генів FoundationOne®, тоді після того, як суб'єкт дозволить передачу інформації, дані FoundationOne® можна перевірити з визначенням відповідності суб'єкта критеріям участі, ґрунтуючись на критеріях, наведених у таблиці 1. Якщо результати аналізу вказують на наявність біомаркерів у суб'єкта, то суб'єкт вважається придатним для вступу до фази скринінгу і йому не потрібно чекати аналізу по крові. Якщо результати аналізу на набір генів FoundationOne® є негативними, суб'єкт все ще може вважатися таким, що відповідає критеріям участі, якщо будуть отримані позитивні результати аналізу на біомаркери в аналізі по його крові. Якщо раніше суб'єкту не виконували аналіз пухлинної тканини на набір генів FoundationOne® і в наявності є архівна тканина, ініціюється запит на отримання й аналіз архівної пухлинної тканини. Якщо результат аналізу по крові вказує на наявність біомаркерів у суб'єкта, то суб'єкт вважається придатним для вступу до фази скринінгу і йому не потрібно чекати аналізу з використанням архівної пухлини. Результати аналізу з використанням архівної пухлинної тканини (за їхньої наявності) можна використовувати в поєднанні з результатами аналізу по крові для досліджень узгодженості й допоміжних досліджень.

За рішенням спонсора дослідження, якщо результати аналізу по крові є негативними, для визначення відповідності критеріям участі в дослідженні можна використовувати архівну пухлинну тканину.

У разі відсутності архівної пухлинної тканини суб'єкт повинен погодитися на взяття пухлинної тканини.

Якщо результати аналізу по крові вказують на наявність біомаркерів, потрібно взяти свіжу пухлинну тканину перед днем 1 циклу 1 для подальшого використання в дослідженнях узгодженості й допоміжних дослідженнях. Аналізи нещодавно взятої пухлинної тканини можна виконувати в будь-який час у ході дослідження, а результати можуть не знадобитися до входу суб'єкта у фазу скринінгу.

За рішенням спонсора дослідження, якщо результати аналізу по крові є негативними, для визначення відповідності критеріям участі в дослідженні можна використовувати нещодавно взятую пухлинну тканину.

Фаза скринінгу повинна розпочатися не пізніше ніж через 30 днів після того, як під час фази попереднього скринінгу в суб'єктів встановили наявність біомаркерів.

Фаза скринінгу

Перед проведенням будь-яких процедур, пов'язаних із дослідженням, у фазі скринінгу, усі суб'єкти з наявністю біомаркерів повинні підписати ФІЗ для участі в основному дослідженні. Під час цієї фази необхідно перевірити критерії відповідності й буде проведена повна клінічна оцінка, як указано в розкладі подій за часом. Процедури скринінгу необхідно виконувати протягом періоду тривалістю до 35 днів перед днем 1 циклу 1, якщо не вказано інше. Слід приймати результати досліджень з візуалізацією, отримані не раніше ніж за 8 тижнів до дня 1 циклу 1. Скринінгові лабораторні оцінки клінічної безпеки можна використовувати для оцінок дня 1 циклу 1, якщо проводити їх у межах 14 днів циклу 1.

Суб'єкти, які не відповідають усім критеріям включення в дослідження або відповідають критерію невиключення, можуть один раз пройти повторний скринінг. Рішення про повторний скринінг приймає дослідник за умови обов'язкового погодження зі спонсором і затвердження спонсором. Суб'єктам, які повинні пройти повторний скринінг, перед повторним скринінгом необхідно буде підписати нову ФІЗ. Для суб'єктів, які пройшли повторний скринінг у межах 35 днів після запланованого включення в дослідження, можна використовувати отримані під час першого скринінгу результати лабораторних досліджень, комп'ютерної томографії (КТ)/магнітно-резонансної томографії (МРТ) і сканування кісток (знову ж виконаних не раніше ніж за 8 тижнів до дня 1 циклу 1), щоб визначити право на участь, якщо результати цих досліджень не були причиною повторного скринінгу.

Фаза лікування

Фаза лікування повинна починатися в день 1 циклу 1 і продовжуватися до припинення застосування досліджуваного лікарського засобу. Останні визначені показники, виміряні в день 1 циклу 1 перед введенням досліджуваного лікарського засобу або під час скринінгу (залежно від того, яке вимірювання проводили останнім), визначаються як вихідні показники. Візити в рамках кожного циклу повинні мати інтервал проведення ± 3 дні, якщо не вказано інше. Дати візитів у рамках дослідження повинні обчислюватися від дати дня 1 циклу 1. Суб'єктам можна виконувати дослідження з візуалізацією у межах ± 7 днів від візиту, що потребує проведення дослідження з візуалізацією. Інформація щодо візитів лікування і досліджень, які виконують під час фази лікування, наведена в

розкладі подій за часом.

У дні взяття зразків для дослідження фармакокінетики (ФК) і фармакодинаміки суб'єкт не повинен приймати досліджуваний лікарський засіб вдома вранці в день візитів у рамках дослідження. Досліджуваний лікарський засіб слід приймати в центрі проведення дослідження. Додаткову інформацію щодо днів і часу взяття зразків для дослідження ФК і фармакодинаміки наведено в розкладі подій за часом. Додаткову інформацію щодо взяття зразків для дослідження ФК наведено в розділі 9.3. Додаткову інформацію щодо процедур взяття й зберігання зразків крові для дослідження ФК і фармакодинаміки наведено в посібнику з лабораторних досліджень.

У разі наявності клінічних показань проведення клінічного оцінювання й лабораторних досліджень можна повторювати частіше. Лікування досліджуваним лікарським засобом має тривати до настання прогресування захворювання, неприйнятної токсичності, смерті або припинення дослідження спонсором. Після того, як суб'єкт припинить застосування досліджуваного лікарського засобу він повинен пройти візит закінчення лікування (ЗЛ) не пізніше ніж 30 днів після прийому останньої дози досліджуваного лікарського засобу й перейти до фази подальшого спостереження.

Візит закінчення лікування

Візит закінчення лікування потрібно запланувати на період у межах 30 днів після прийому останньої дози досліджуваного лікарського засобу або перед застосуванням нового виду терапії проти раку передміхурової залози, залежно від того, що відбудеться раніше. Якщо суб'єкт не може повернутися до центру проведення дослідження для проведення візиту ЗЛ, з ним потрібно зв'язатися, щоб зібрати дані про побічні явища (ПЯ), які виникли в межах періоду 30 днів після прийому останньої дози досліджуваного лікарського засобу.

Фаза подальшого спостереження

Після завершення суб'єктом фази лікування подальше спостереження за виживанням і СЯС необхідно виконувати кожні 3 місяця шляхом візитів до клініки, телефонної співбесіди, аналізу медичної карти або за допомогою інших зручних методів. Летальні випадки, незалежно від причинно-наслідкових зв'язків, і серйозні побічні явища (СПЯ), які вважаються пов'язаними з досліджуваними препаратами, необхідно збирати й повідомляти в межах 24 годин після виявлення або отримання сповіщення про подію. Якщо інформацію в рамках подальшого спостереження отримують у телефонній бесіді, необхідно зробити письмовий документ за результатами співбесіди й додати для розгляду до первинної документації.

Зразки для аналізу на аномалії репарації ДНК з позитивними результатами аналізу на наявність біомаркерів

Щоб оцінити, чи в суб'єктів наявні біомаркери, під час дослідження можна провести аналіз по крові, який забезпечить більш швидкий спосіб визначення статусу наявності біомаркерів, ніж аналіз тканини, і при цьому буде більш зручним для суб'єктів. До отримання результатів аналізу по крові потрібно провести аналіз пухлинної тканини (архівної або нещодавно взятої). Для гарантії того, що всі суб'єкти, незалежно від часу вступу в дослідження, мають однакові доступні дані для аналізу біомаркерів (наприклад, для досліджень узгодженості й допоміжних досліджень), у всіх суб'єктів, які підписали форму інформованої згоди (ФІЗ) для попереднього скринінгу, братимуть як пухлинну тканину, так і зразки крові. Процес визначення наявності біомаркерів повинен відрізнятися для суб'єктів, які входять у фазу попереднього скринінгу до отримання результатів аналізу по крові, порівняно з тими суб'єктами, які входять у фазу попереднього скринінгу після отримання результатів аналізу по крові. Проте в усіх суб'єктів необхідно оцінити статус наявності біомаркерів у пухлинній тканині й у крові.

Щоб відповідати критеріям участі в дослідженні, у суб'єктів повинна бути підтверджена наявність біомаркерів результатами аналізу пухлинної тканини (архівної або нещодавно взятої) або крові, за можливості. Біомаркери, що становлять інтерес у цьому дослідженні, і критерії наявності біомаркерів наведені в таблиці 3. Необхідно провести аналізи для визначення відповідальних за втрату біалеля (наприклад, частоти коекспресії мутацій із втратою числа копій), і ці відповідальні можуть використовуватися для визначення наявності біомаркерів, коли ця інформація стане доступною.

Таблиця 3

Набір біомаркерів і критерії наявності

Гени	Визначення	Геномне ураження, необхідне для наявності біомаркерів ^a
BRCA-1	Ген 1 раку молочної залози (Breast Cancer 1)	- Гомозиготна делеція - Гетерозиготна делеція + шкідлива мутація - Кількісно нейтральна втрата гетерозиготності + шкідлива мутація
BRCA-2	Ген 2 раку молочної залози (Breast Cancer 2)	
FANCA	Ген групи комплементції А анемії Фанконі	

	(Fanconi Anemia Complementation Group A)	
PALB2	Ген-партнер і локалізатор BRCA-2 (Partner and Localizer of BRCA2)	
CHEK2	Ген кінази 2 контрольної точки (Checkpoint Kinase 2)	
BRIP1	Ген білка BRCA1, що взаємодіє з C-кінцевою геліказою 1 (BRCA1 Interacting Protein C-terminal Helicase 1)	
HDAC2	Ген гістондеацетилази 2 (Histone Deacetylase 2)	
ATM	Мутантний ген атаксії-телеангіоектазії (Ataxia Telangiectasia Mutated)	
ATM	Мутантний ген атаксії-телеангіоектазії (Ataxia Telangiectasia Mutated)	Моноалельна шкідлива мутація в каталітичному домені кінази
Контрольні гени		
AR	Ген андрогенного рецептора (Androgen Receptor)	
TP53	Ген білка 53 пухлин (Tumor Protein 53)	

Втрата моноалелів у всіх генах залишається прийнятною для вступу в дослідження доти, доки не буде затверджений існуючий алгоритм втрати біалелів.

Циркулюючі пухлинні клітини

Зразки крові необхідно брати в пробірку Celsave у моменти часу, визначені в розкладі подій за часом. Перелік ЦПК необхідно оцінювати в центральній лабораторії, щоб оцінити відповідь на досліджуваний препарат.

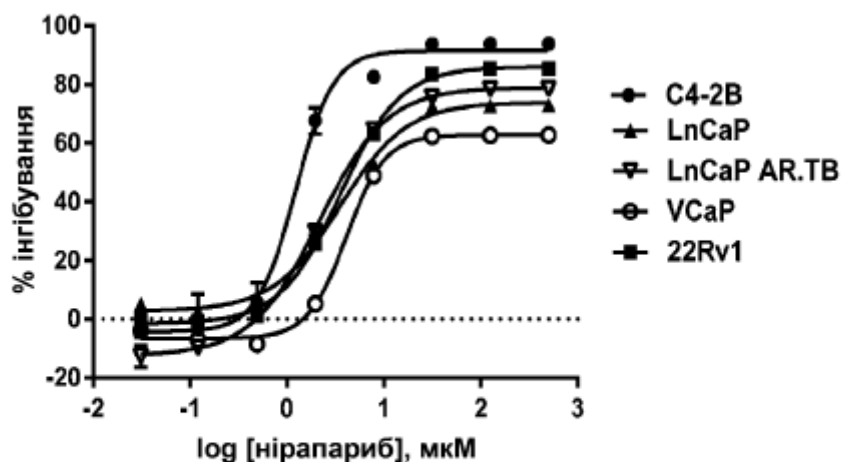
Зразки цільної крові для аналізу РНК

Зразки цільної крові необхідно брати в пробірки Paxgene. У рибонуклеїновій кислоті (РНК) можуть бути виявлені множинні транскрипти РНК, що присутні в пухлинах передміхурової залози, і аналіз цих зразків дозволить оцінити потенційні механізми резистентності, яка може виникнути в разі застосування нірапарибу.

Циркулююча пухлинна ДНК

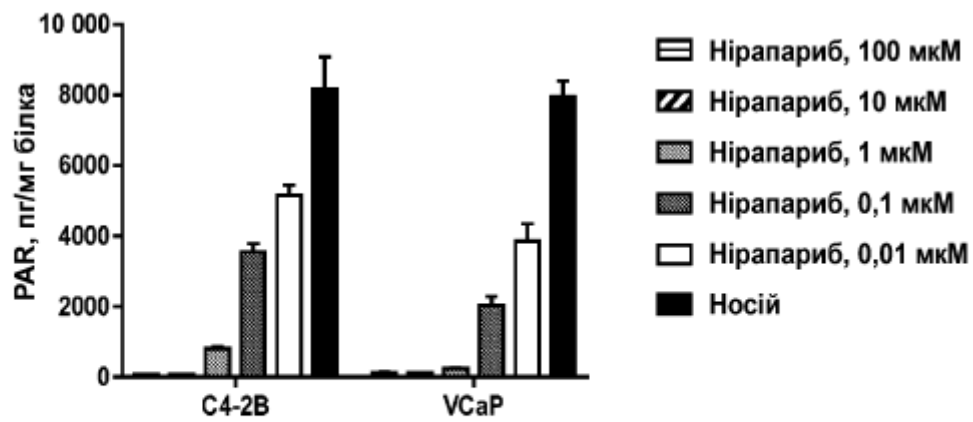
Зразки плазми, зібрані під час періоду лікування, необхідно використовувати для відстеження змін рівнів або типів аномалій репарації ДНК, за якими спостерігають з плином часу за показниками циркулюючої пухлинної ДНК (цпДНК), і для контролю потенційних маркерів резистентності до нірапарibu.

Хоча наведений опис розкриває принципи цього винаходу на прикладах, призначених для ілюстрації, зрозуміло, що практичне застосування винаходу охоплює всі звичайні варіації, адаптації й/або модифікації, які підпадають під наведені нижче пункти формули винаходу, і їхні еквіваленти.



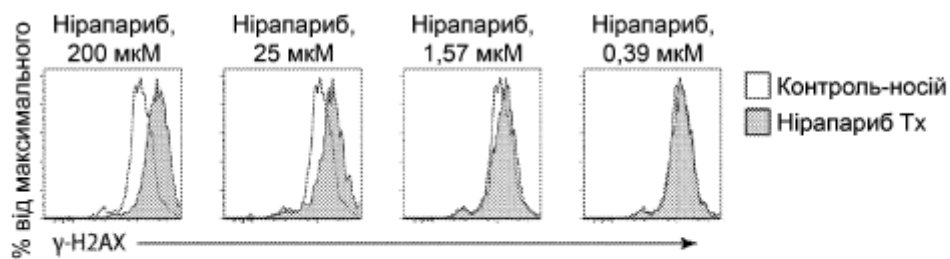
Нірапариб інгібує ріст клітинних ліній пухлини передміхурової залози людини *in vitro*.

Fig. 1



Нірапариб пригнічує утворення PAR у двох клітинних лініях пухлини передміхурової залози людини *in vitro*.

Фіг. 2



За результатами вимірювань за допомогою проточної цитометрії лікування нірапарибом індукує підвищення рівня γ -H2AX у клітинах 22RV1 дозозалежним способом.

Фіг. 3