

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202293453 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.06.19(22) Дата подачи заявки
2021.06.24(51) Int. Cl. A61K 31/4178 (2006.01)
A61K 31/4184 (2006.01)
A61K 31/4535 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА С ПОМОЩЬЮ СРЕДСТВ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ

(31) 63/044,127

(32) 2020.06.25

(33) US

(86) PCT/US2021/038870

(87) WO 2021/262962 2021.12.30

(71) Заявитель:
СЕЛДЖЕН КОРПОРЕЙШН (US)

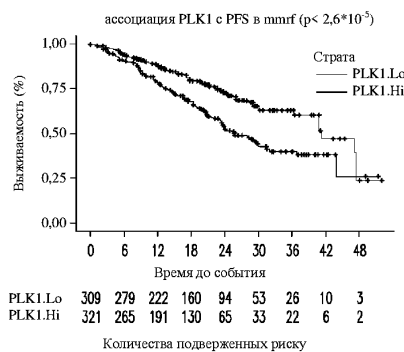
(72) Изобретатель:

Ахсан Аариф, Бишт Камлеш,
Бжорклунд Чад, Флинт Дженифер
Эрин, Хсю Чих-Чао, Джеяраджу
Дэнни Вижей (US), Ортиз-Эстевез
Мария (ES), Пьеркель Вильям
Эдвард, Сакурта Анжан, Тоуфик Фаби
Джорж (US)

(74) Представитель:

Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина Е.М.,
Угрюмов В.М., Костюшенкова М.Ю.,
Джермакян Р.В., Строкова О.В. (RU)

(57) В изобретении предусмотрены способы применения соединения, предусмотренного в данном документе (например, соединения 1, соединения 2, соединения 3, соединения 4, соединения 5, соединения 6 или соединения 7, или их стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на их основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа) в комбинации со вторым активным средством для лечения рака. Второе активное средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1, ингибитора BRD4, ингибитора BET, ингибитора NEK2, ингибитора AURKB, ингибитора MEK, ингибитора PNF19, ингибитора ВТК, ингибитора mTOR, ингибитора PIM, ингибитора IGF-1R, ингибитора XPO1, ингибитора DOT1L, ингибитора EZH2, ингибитора JAK2, ингибитора BIRC5 или ингибитора ДНК-метилтрансферазы



A1

202293453

202293453

A1

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА С ПОМОЩЬЮ СРЕДСТВ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ

1. ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка заявляет приоритет по предварительной заявке на патент США № 63/044127, поданной 25 июня 2020 г., которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

2. ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Настоящее описание подается с копией машиночитаемой формы (CRF) перечня последовательностей. CRF носит название 14247-544-228_Seqlisting_ST25.txt, которая была создана 21 июня 2021 г., и имеет размер 11150 байт, и включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

3. ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] В данном документе предусмотрены способы применения соединения, предусмотренного в данном документе (например, соединения 1, соединения 2, соединения 3, соединения 4, соединения 5, соединения 6 или соединения 7, или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа) в комбинации со вторым активным средством для осуществления лечения рака.

4. ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] Рак главным образом характеризуется повышением числа аномальных клеток, происходящих из определенной нормальной ткани, инвазией этих аномальных клеток в расположенные рядом ткани или лимфатическим или гемоконтактным распространением злокачественных клеток в регионарные лимфатические узлы и метастазированием. Клинические данные и молекулярно-биологические исследования указывают на то, что рак представляет собой многостадийный процесс, который начинается с незначительных предраковых изменений, которые при определенных условиях могут прогрессировать до неоплазии. Опухолевый очаг поражения может видоизменяться клонально и развивать повышающуюся способность к инвазии, росту, метастазированию и гетерогенности, особенно в условиях, при которых неопластические клетки избегают иммунного надзора хозяина. Современная терапия рака может включать хирургическое вмешательство, химиотерапию, гормональную терапию и/или лучевую терапию для устранения неопластических клеток у пациента.

Последние достижения в области средств терапии рака обсуждаются Rajkumar *et al.* в *Nature Reviews Clinical Oncology* 11, 628–630 (2014).

[0005] Все современные подходы к терапии рака представляют существенные недостатки для пациента. Хирургическое вмешательство, например, может быть
5 противопоказано по состоянию здоровья пациента или может быть неприемлемо для пациента. Кроме того, хирургическое вмешательство может приводить к неполному удалению неопластической ткани. Лучевая терапия является эффективной только тогда, когда неопластическая ткань проявляет более высокую чувствительность к облучению, чем нормальная ткань. Лучевая терапия также часто может вызывать
10 серьезные побочные эффекты. Гормональная терапия редко применяется в виде одного средства. Хотя гормональная терапия может быть эффективной, ее часто применяют для предупреждения или задержки рецидива рака после того, как другие средства лечения привели к удалению большинства раковых клеток.

[0006] Несмотря на наличие различных химиотерапевтических средств,
15 химиотерапия характеризуется многими недостатками. Почти все химиотерапевтические средства токсичны, и химиотерапия вызывает значительные и часто опасные побочные эффекты, в том числе сильную тошноту, угнетение функции костного мозга и иммуносупрессию. Кроме того, даже при введении комбинаций химиотерапевтических средств многие опухолевые клетки являются устойчивыми или
20 развивают устойчивость к химиотерапевтическим средствам. Фактически клетки, устойчивые к конкретным химиотерапевтическим средствам, применяемым в протоколе лечения, часто оказываются устойчивыми к другим лекарственным средствам, даже если эти средства действуют с помощью механизма, отличного от
25 такового у лекарственных средств, применяемых в определенном лечении. Это явление называют плейотропной лекарственной устойчивостью или множественной лекарственной устойчивостью. В связи с лекарственной устойчивостью многие виды рака оказываются или становятся рефрактерными в отношении стандартных протоколов химиотерапевтического лечения.

[0007] Гематобластозы представляют собой виды рака, которые начинаются в
30 кроветворных тканях, таких как костный мозг, или в клетках иммунной системы. Примерами гемобластозов являются лейкоз, лимфома и миелома. Более конкретные примеры гематобластозов включают без ограничения острый миелоидный лейкоз (AML), острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), множественную миелому (MM), неходжкинскую лимфому (NHL), диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL),

лимфому Ходжкина (HL), Т-клеточную лимфому (TCL), лимфому Беркитта (BL), хронический лимфолейкоз/мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (CLL/SLL), лимфома маргинальной зоны (MZL) и миелодиспластические синдромы (MDS).

[0008] Множественная миелома (MM) представляет собой рак плазматических клеток в костном мозге. Обычно плазматические клетки продуцируют антитела и играют ключевую роль в иммунной функции. Однако неконтролируемый рост таких клеток приводит к боли в костях и переломам, анемии, инфекциям и другим осложнениям. Множественная миелома является вторым по распространенности гемобластомом, хотя точные причины множественной миеломы остаются неизвестными. Множественная миелома вызывает высокие уровни белков в крови, моче и органах, в том числе без ограничения М-белка и других иммуноглобулинов (антител), альбумина и бета-2-микроглобулина, за исключением некоторых пациентов (по оценкам от 1% до 5%), клетки миеломы которых не секретируют эти белки (так называемая несекреторная миелома). М-белок, представляющий собой сокращенную форму от моноклонального белка, также известный как парапротеин, является весьма аномальным белком, продуцируемым миеломными плазматическими клетками, и может быть обнаружен в крови или моче почти у всех пациентов с множественной миеломой, за исключением пациентов, у которых имеется несекреторная миелома или миеломные клетки которых продуцируют легкие цепи иммуноглобулина с тяжелой цепью.

[0009] Симптомы, относящиеся к костной системе, в том числе боль в костях, относятся к числу самых клинически значимых симптомов множественной миеломы. Злокачественные плазматические клетки высвобождают факторы, стимулирующие остеокласты (в том числе IL-1, IL-6 и TNF), которые вызывают вымывание кальция из костей, вызывая литические очаги поражения; гиперкальцемию представляет собой другой симптом. Факторы, стимулирующие остеокласты, также называемые цитокинами, могут предупреждать апоптоз, или гибель миеломных клеток. У пятидесяти процентов пациентов на момент постановки диагноза имеются поддающиеся рентгенологическому обнаружению очаги поражения костной системы, связанные с миеломой. Другие распространенные клинические симптомы множественной миеломы включают полиневропатию, анемию, повышенную вязкость, инфекции и почечную недостаточность.

5. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0010] В данном документе предусмотрены способы применения соединения, предусмотренного в данном документе (например, соединения 1, соединения 2, соединения 3, соединения 4, соединения 5, соединения 6 или соединения 7, или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа), в комбинации со вторым активным средством для осуществления лечения рака, где второе активное средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1 (например, BI2536), ингибитора BRD4 (например, JQ1), ингибитора BET (например, соединения A), ингибитора NEK2 (например, JH295), ингибитора AURKB (например, AZD1152), ингибитора MEK (например, траметиниба), ингибитора PNF19, ингибитора BTK (например, ибрутиниба), ингибитора mTOR (например, эверолимуса), ингибитора PIM (например, LGH-447), ингибитора IGF-1R (например, линситиниба), ингибитора XPO1 (например, селинексора), ингибитора DOT1L (например, SGC0946 или пинометостата), ингибитора EZH2 (например, таземетостата, UNC1999 или CPI-1205), ингибитора JAK2 (например, федратиниба), ингибитора BIRC5 (например, YM155) или ингибитора ДНК-метилтрансферазы (например, азациитидина).

[0011] Также предусмотрены для применения в способах, предусмотренных в данном документе, фармацевтические композиции, составленные для введения соответствующим путем, и средства, содержащие эффективные концентрации соединений, предусмотренных в данном документе, например, соединения 1, соединения 2, соединения 3, соединения 4, соединения 5, соединения 6 или соединения 7, или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа, и необязательно содержащие по меньшей мере один фармацевтический носитель. В одном варианте осуществления фармацевтические композиции доставляют количества соединения, эффективные для лечения рака, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе.

[0012] В одном варианте осуществления рак представляет собой гемобластоз. В одном варианте осуществления рак представляет собой множественную миелому (ММ).

[0013] Соединения или композиции, предусмотренные в данном документе, или их фармацевтически приемлемые производные могут вводить одновременно, до или после введения друг друга и одного или нескольких из указанных выше средств терапии.

5 [0014] Эти и другие аспекты предмета настоящего изобретения, описанного в данном документе, станут очевидными при обращении к следующему подробному описанию.

6. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

10 [0015] На **фигурах 1A – 1D** показана ассоциация PLK1 с PFS в MMRF, с OS в MMRF, с PFS в MM010 и с OS в MM010 соответственно.

[0016] На **фигуре 1E** показано, что уровень экспрессии PLK1 был значительно повышен у пациентов с рецидивом.

[0017] На **фигуре 1F** показан паттерн экспрессии PLK1 на различных стадиях прогрессирования и рецидива заболевания, представляющего собой MM.

15 [0018] На **фигуре 2A** и **фигуре 2B** показаны эффекты обработки помалидомидом на уровни PLK1 и его нижележащих эффекторов pCDC25C и CDC25C в линиях клеток EJM и EJM/PR соответственно.

[0019] На **фигуре 2C** показаны эффекты обработки помалидомидом и соединением 5 на уровни PLK1 и его нижележащих эффекторов pCDC25C и CDC25C в 20 линии клеток MM1.S.

[0020] На **фигуре 2D** показаны эффекты обработки помалидомидом на уровни транскриптов PLK1 в клетках MM1.S; на **фигуре 2E** показаны эффекты обработки помалидомидом на связывание Aiolos и Ikaros с сайтами инициации транскрипции (TSS) PLK1.

25 [0021] На **фигуре 2F** показано, что нокдаун как Aiolos, так и Ikaros приводит к снижению уровней PLK1.

[0022] На **фигуре 3** показаны изменения передачи сигнала PLK1 после обработки клеток нокодазолом и соединением 5 и их комбинацией.

[0023] На **фигуре 4A** показаны уровни PLK1, CDC25C и pCDC25C и цереблona 30 в шести чувствительных и устойчивых к помалидомиду изогенных парах линий клеток.

[0024] На **фигуре 4B** показано повышение доли клеток G2-M в пяти из шести устойчивых к помалидомиду линий клеток.

- 5 [0025] На **фигуре 5A** показана обработка линий клеток АМО1 соединением 5 в комбинации с В12536; на **фигуре 5B** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 5C** показан эффект обработки линий клеток АМО1-PR соединением 5 в комбинации с В12536; и на **фигуре 5D** показаны соответствующие значения показателя аддитивности.
- 10 [0026] На **фигуре 5E** показана обработка линий клеток К12РЕ соединением 5 в комбинации с В12536; на **фигуре 5F** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 5G** показан эффект обработки линий клеток К12РЕ/PR соединением 5 в комбинации с В12536; и на **фигуре 5H** показаны соответствующие значения показателя аддитивности.
- [0027] На **фигуре 5I** и **фигуре 5J** показаны эффекты соединения 5 в комбинации с В12536 на ранний и поздний апоптоз в клетках АМО1 и АМО1-PR соответственно.
- 15 [0028] На **фигуре 5K** показаны изменения Ikaros и передачи сигнала, способствующего выживанию, в линиях клеток АМО1 и АМО1-PR в ответ на В12536 и соединение 5 после обработки.
- [0029] На **фигуре 6A** показана обработка клетки Мс-CAR соединением 5 в комбинации с В12536; на **фигуре 6B** показаны соответствующие значения показателя аддитивности.
- 20 [0030] На **фигуре 6C** показаны изменения уровней Aiolos и Ikaros в линии клеток Мс-CAR в ответ на В12536 и соединение 5 после обработки.
- [0031] На **фигуре 7A** показано, что пациенты, несущие двухаллельный P53, характеризовались значительным повышением уровня экспрессии PLK1.
- 25 [0032] На **фигуре 7B** показаны эффекты В12536 в линии клеток К12РЕ с двухаллельным P53 и клетках АМО1 с P53 дикого типа.
- [0033] На **фигуре 8A** и **фигуре 8B** показано, что E2F2, CKS1B, TOP2A и NUF2 характеризовались повышенным уровнем экспрессии в MDMS8-подобной линии клеток на уровнях экспрессии белка и транскрипта соответственно.
- [0034] На **фигурах 9A – 9D** показана ассоциация CKS1B с OS, ассоциация CKS1B с PFS, ассоциация E2F2 с OS и ассоциация E2F2 с PFS соответственно.
- 30 [0035] На **фигуре 9E** показано, что нокдаун CKS1B и E2F2 характеризовался значительным снижением пролиферации и повышением апоптоза.
- [0036] На **фигуре 10A** и **фигуре 10B** показаны эффекты ингибиторов BRD4 на CKS1B и E2F2 и их гены-мишени в линиях клеток DF15PR и H929 соответственно.

- [0037] На **фигурах 10С – 10F** показаны эффекты ингибиторов BRD4 на уровень транскрипта CKS1B в линии клеток DF15PR, на уровень транскрипта E2F2 в линии клеток DF15PR, на уровень транскрипта CKS1B в линии клеток H929 и на уровень транскрипта E2F2 в линии клеток H929 соответственно.
- 5 [0038] На **фигуре 11А и фигуре 11В** показано, что четыре разных shRNA, нацеленных на BRD4, устойчиво характеризовались снижением уровней CKS1B и E2F2 в линиях клеток K12PE и DF15PR соответственно; на **фигуре 11С и фигуре 11D** показано, что все четыре shRNA вызывали заметное снижение пролиферации клеток в K12PE- и MDMS8-подобных клетках соответственно.
- 10 [0039] На **фигуре 12** показаны эффекты помалидомида на CKS1B и E2F2 в линиях клеток, чувствительных и устойчивых к Rom.
- [0040] На **фигуре 13А** показана обработка линий клеток K12PE с помощью Len в комбинации с JQ1; на **фигуре 13В** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 13С** показана обработка линий клеток K12PE с помощью
- 15 Rom в комбинации с JQ1; на **фигуре 13D** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 13Е** показана обработка линий клеток K12PE соединением 5 в комбинации с JQ1; на **фигуре 13F** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 13G** показана обработка линий клеток K12PE соединением 6 в комбинации с JQ1; на **фигуре 13H** показаны соответствующие
- 20 значения показателя аддитивности.
- [0041] На **фигуре 13I** показана обработка линий клеток K12PE/PR с помощью Len в комбинации с JQ1; на **фигуре 13J** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 13K** показана обработка линий клеток K12PE/PR с помощью Rom в комбинации с JQ1; на **фигуре 13L** показаны соответствующие
- 25 значения показателя аддитивности; на **фигуре 13M** показана обработка линий клеток K12PE/PR соединением 5 в комбинации с JQ1; на **фигуре 13N** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 13O** показана обработка линий клеток K12PE/PR соединением 6 в комбинации с JQ1; на **фигуре 13P** показаны соответствующие значения показателя аддитивности.
- 30 [0042] На **фигуре 13Q** показаны эффекты на уровни Aiolos, Ikaros, CKS1B, E2F2, Muc, Survivin при обработке комбинацией JQ1 и Len, Rom, соединения 5 и соединения 6.
- [0043] На **фигуре 14А и фигуре 14В** показана связь экспрессии NEK2 с выживаемостью без прогрессирования и общей выживаемостью соответственно.

[0044] На **фигуре 14C** показано, что уровень экспрессии NEK2 был значительно повышен у пациентов с рецидивом.

[0045] На **фигуре 14D** показано значительное повышение уровня экспрессии NEK2 в устойчивых к помалидомиду линиях клеток.

5 [0046] На **фигурах 15A – 15F** показана ассоциация NEK2 с PFS в MMRF, с OS в MMRF, с PFS в DFCI, с OS в DFCI, с PFS в MM0010 и с OS в MM0010 соответственно.

[0047] На **фигуре 16A** показана обработка линий клеток АМО1 соединением 5 в комбинации с гас-ССТ 250863; на **фигуре 16B** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 16C** показана обработка линий клеток АМО1/PR соединением 5 в комбинации с гас-ССТ 250863; на **фигуре 16D** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 16E** показана обработка линий клеток АМО1 соединением 6 в комбинации с гас-ССТ 250863; на **фигуре 16F** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 16G** показана обработка линий клеток АМО1/PR соединением 6 в комбинации с гас-ССТ 250863; на **фигуре 16H** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 16I** показана обработка линий клеток АМО1 соединением 5 в комбинации с JH295; на **фигуре 16J** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 16K** показана обработка линий клеток АМО1/PR соединением 5 в комбинации с JH295; на **фигуре 16L** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 16M** показана обработка линий клеток АМО1 соединением 6 в комбинации с JH295; на **фигуре 16N** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 16O** показана обработка линий клеток АМО1/PR соединением 6 в комбинации с JH295; на **фигуре 16P** показаны соответствующие значения показателя аддитивности.

25 [0048] На **фигуре 17** показано повышение апоптотических клеток, когда нокдаун NEK2 комбинировали с соединением 5 или соединением 6.

[0049] На **фигуре 18A** и **фигуре 18B** показаны эффекты траметиниба в комбинации с Lep в линиях клеток АМО1 и АМО1-PR соответственно; на **фигуре 18C** и **фигуре 18D** показаны эффекты траметиниба в комбинации с Rom в линиях клеток АМО1 и АМО1-PR соответственно; на **фигуре 18E** и **фигуре 18F** показаны эффекты траметиниба в комбинации с соединением 5 в линиях клеток АМО1 и АМО1-PR соответственно; на **фигуре 18G** и **фигуре 18H** показаны эффекты траметиниба в комбинации с соединением 6 в линиях клеток АМО1 и АМО1-PR соответственно.

- [0050] На **фигуре 19** показано, что комбинация траметиниба и соединения 6 синергически снижают передачу сигнала ERK, ETV4 и MYC в линии клеток AMO1-PR.
- 5 [0051] На **фигуре 20A** и **фигуре 20B** показаны эффекты комбинации траметиниба и соединения 6 на апоптоз в линиях клеток AMO1 и AMO1-PR в сутки 3 и сутки 5 соответственно.
- [0052] На **фигуре 21A** и **фигуре 21B** показаны эффекты комбинации траметиниба и соединения 6 на клеточные циклы в линии клеток AMO1-PR в сутки 3 и сутки 5 соответственно.
- 10 [0053] На **фигуре 22A** и **фигуре 22B** показано, что пациенты с высоким уровнем экспрессии BIRC5 характеризовались более низким уровнем экспрессии PFS и OS соответственно.
- [0054] На **фигуре 23A** показано, что несколько устойчивых к помалидомиду линий клеток характеризовались повышенным уровнем экспрессии BIRC5; на **фигуре**
- 15 **23B** показано, что уровни BIRC5 снижались в ответ на обработку соединением 5 через 48 и 72 часа с последующим началом апоптоза в линии клеток MM1.S.
- [0055] На **фигуре 24A** показана обработка линий клеток AMO1 соединением 5 в комбинации с YM155; на **фигуре 24B** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 24C** показана обработка линий клеток AMO1/PR
- 20 соединением 5 в комбинации с YM155; на **фигуре 24D** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 24E** показана обработка линий клеток AMO1 соединением 6 в комбинации с YM155; на **фигуре 24F** показаны соответствующие значения показателя аддитивности; на **фигуре 24G** показана обработка линий клеток AMO1/PR соединением 6 в комбинации с YM155; на **фигуре**
- 25 **24H** показаны соответствующие значения показателя аддитивности.
- [0056] На **фигуре 25A** показано, что нокдаун BIRC5 снижает пролиферацию клеток AMO1-PR; на **фигуре 25B** показано, что нокдаун BIRC5 также снижает уровень экспрессии гена FOXM1, ассоциированного с высоким риском.
- [0057] На **фигуре 26A** показано, что гены BIRC5 и FOXM1, ассоциированные с
- 30 высоким риском, характеризовались значительным уровнем совместной экспрессии в проекте изучения генома при миеломе, что позволяет предположить их совместную регуляцию; на **фигуре 26B** показано, что ингибирование BIRC5 с помощью YM155 также снижало уровень экспрессии FOXM1 дозозависимым образом в линиях клеток AMO1-PR и K12PE-PR.

7. ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

А. Определения

[0058] Если не определено иное, то все технические и научные термины, применяемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно

5 подразумевается специалистом средней квалификации в области техники. Все патенты, заявки, опубликованные заявки и другие публикации включены посредством ссылки во всей своей полноте. В случае наличия множества определений термина в данном документе преимущественную силу имеют те из них, которые представлены в этом разделе, если не указано иное.

10 **[0059]** Применяемые в данном документе и в описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа также включают ссылки на формы множественного числа, если контекст явно не указывает иное.

[0060] Применяемые в данном документе термины "предусматривающий" и "включающий" можно применять взаимозаменяемо. Термины "предусматривающий" и
15 "включающий" следует интерпретировать как определяющие наличие указанных признаков или компонентов, как изложено, но не исключающие наличия или добавления одного или нескольких признаков, или компонентов, или их групп. Кроме того, термины "предусматривающий" и "включающий" предназначены для включения примеров, охватываемых термином "состоящий из". Следовательно, термин
20 "состоящий из" можно применять вместо терминов "предусматривающий" и "включающий" для обеспечения более конкретных вариантов осуществления настоящего изобретения.

[0061] Термин "состоящий из" означает, что предмет настоящего изобретения характеризуется по меньшей мере 90%, 95%, 97%, 98% или 99% заявленных признаков
25 или компонентов, из которых он состоит. В другом варианте осуществления термин "состоящий из" исключает из объема любого последующего перечисления любые другие признаки или компоненты, за исключением тех, которые не являются существенными для достижения технического эффекта.

[0062] Применяемый в данном документе термин "или" следует
30 интерпретировать как включающий "или", означающий любой один или любую комбинацию. Следовательно, "А, В или С" означает любое из следующего: "А; В; С; А и В; А и С; В и С; А, В и С". Исключение из этого определения будет иметь место только тогда, когда комбинация элементов, функций, стадий или действий каким-либо образом по своей сути является взаимоисключающей.

[0063] Применяемые в данном документе термины "приблизительно" и "примерно", если не указано иное, если применяются в связи с дозами, количествами или весовыми процентами ингредиентов композиции или лекарственной формы, то означают дозу, количество или весовой процент, которые признаются специалистом средней квалификации в данной области техники как обеспечивающие фармакологический эффект, эквивалентный эффекту, полученному от охватываемой указанной дозы, количества или весового процента. В определенных вариантах осуществления термины "приблизительно" и "примерно" при применении в данном контексте предполагают дозу, количество или весовой процент в пределах 30%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10% или в пределах 5% указанной дозы, количества или весового процента.

[0064] Применяемый в данном документе, если не указано иное, термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к солям, полученным из фармацевтически приемлемых, относительно нетоксичных кислот, в том числе неорганических кислот и органических кислот. В определенных вариантах осуществления подходящие кислоты включают без ограничения уксусную, адипиновую, 4-аминосалициловую, аскорбиновую, аспарагиновую, бензолсульфоновую, бензойную, камфорную, камфорсульфоновую, каприновую, капроновую, каприловую, коричную, угольную, лимонную, цикламную, дигидрофосфорную, 2,5-дигидроксibenзойную (гентизиновую), 1,2-этандинсульфоновую, этансульфоновую, фумаровую, галактунорную, глюконовую, глюкуроновую, глутаминовую, глутаровую, гликолевую, гиппуровую, бромистоводородную, хлористоводородную, йодистоводородную, изомасляную, изэтионовую, молочную, малеиновую, яблочную, малоновую, миндальную, метансульфоновую, моногидрокарбонную, моногидрофосфорную, моногидросульфоновую, муциновую, 1,5-нафталиндисульфоновую, никотиновую, азотную, щавелевую, памовую, пантотеновую, фосфорную, фталевую, пропионовую, пироглутаминовую, салициловую, субериновую, янтарную, серную, винную, толуолсульфоновую кислоту и т. п. (см., например, S. M. Berge *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 66:1-19 (1977); и *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, P. H. Stahl and C. G. Wermuth, Eds., (2002), Wiley, Weinheim). В определенных вариантах осуществления подходящими кислотами являются сильные кислоты (например, с рKa, составляющей менее приблизительно 1), в том числе без ограничения хлористоводородная, бромистоводородная, серная, азотная, метансульфоновая,

бензолсульфоновая, толуолсульфоновая, нафталинсульфоновая, нафталиндисульфоновая, пиридинсульфоновая или другие замещенные сульфоновые кислоты. Также включены соли других относительно нетоксичных соединений, которые обладают кислотным характером, в том числе аминокислоты, такие как аспарагиновая кислота и т. п., и другие соединения, такие как аспирин, ибупрофен, сахарин и т. п. Соли присоединения кислоты могут быть получены посредством приведения нейтральной формы соединения в контакт с достаточным количеством требуемой кислоты либо в чистом виде, либо в подходящем растворителе.

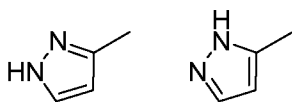
5
10
15
[0065] Применяемый в данном документе, если не указано иное, термин "пролекарство" активного соединения относится к соединениям, которые трансформируются *in vivo* с получением активного соединения или фармацевтически приемлемой формы активного соединения. Пролекарство может быть неактивным при введении субъекту, но превращается *in vivo* в активное соединение, например, посредством гидролиза (например, гидролиза в крови). Пролекарства включают соединения, в которых гидроксид-, амино- или меркаптогруппа связана с любой группой, которая при введении субъекту пролекарства на основе активного соединения расщепляется с образованием свободной гидроксид-, свободной амино- или свободной меркаптогруппы соответственно.

20
25
30
[0066] Применяемый в данном документе, если не указано иное, термин "изомер" относится к разным соединениям, которые характеризуются одинаковой молекулярной формулой. "Стереоизомеры" представляют собой изомеры, которые отличаются только тем, каким образом атомы расположены в пространстве. "Атропизомеры" представляют собой стереоизомеры с затрудненным вращением вокруг одинарных связей. "Энантиомеры" представляют собой пару стереоизомеров, которые являются не совпадающими при наложении друг на друга зеркальными отображениями. Смесь пары энантиомеров в любой пропорции может быть известна как "рацемическая" смесь. "Диастереоизомеры" представляют собой стереоизомеры, которые содержат по меньшей мере два асимметричных атома, но которые не являются зеркальными отображениями друг друга. Абсолютная стереохимия может быть указана в соответствии с системой *R-S* Кана-Ингольда-Прелога. Когда соединение представляет собой энантиомер, стереохимия каждого хирального атома углерода может быть указана с помощью либо *R*, либо *S*. Разделенные соединения, абсолютная конфигурация которых неизвестна, могут быть обозначены (+) или (-) в зависимости от направления (право- или левовращающего), которым они вращают

плоскополяризованный свет при длине волны D-линии натрия. Однако знак оптического вращения (+) и (-) не связан с абсолютной конфигурацией молекулы, *R* и *S*. Определенные из соединений, описанных в данном документе, содержат один или несколько асимметричных центров и, таким образом, могут приводить к образованию энантиомеров, диастереомеров и других стереоизомерных форм, которые могут быть определены с точки зрения абсолютной стереохимии для каждого асимметричного атома как (*R*)- или (*S*)-. Настоящие химические соединения, фармацевтические композиции и способы предназначены для включения всех таких возможных изомеров, в том числе рацемических смесей, оптически по сути чистых форм и промежуточных смесей. Оптически активные (*R*)- и (*S*)-изомеры могут быть получены, например, с применением хиральных синтонов или хиральных реагентов или разделены с применением общепринятых методик.

[0067] "Стереоизомеры" могут также включать *E*- и *Z*-изомеры или их смесь и *cis*- и *trans*-изомеры или их смесь. В определенных вариантах осуществления соединения, описанное в данном документе, выделяют в виде либо *E*-, либо *Z*-изомера. В других вариантах осуществления соединения, описанное в данном документе, представляет собой смесь *E*- и *Z*-изомеров.

[0068] "Таутомеры" относятся к изомерным формам соединения, которые находятся в равновесии друг с другом. Концентрации изомерных форм будут зависеть от среды, в которой обнаружено соединение, и могут различаться в зависимости, например, от того, является ли соединение твердым или находится в органическом или водном растворе. Например, в водном растворе пиразолы могут иметь следующие изомерные формы, которые называются таутомерами друг друга:



[0069] Следует также отметить, что соединение, описанное в данном документе, может содержать не встречающиеся в природе соотношения атомных изотопов одного или нескольких атомов. Например, соединения могут быть мечеными радиоактивными изотопами, такими как, например, тритий (^3H), йод-125 (^{125}I), сера-35 (^{35}S) или углерод-14 (^{14}C), или могут быть изотопно обогащенными, к примеру, дейтерием (^2H), углеродом-13 (^{13}C) или азотом-15 (^{15}N). Применяемый в данном документе термин "изотополог" представляет собой изотопно обогащенное соединение. Термин "изотопно обогащенный" относится к атому, характеризующемуся

изотопным составом, отличным от изотопного состава этого атома, встречающегося в природе. "Изотопно обогащенный" также может относиться к соединению, содержащему по меньшей мере один атом, характеризующийся изотопным составом, отличным от изотопного состава этого атома, встречающегося в природе. Термин

5 "изотопный состав" относится к количеству каждого изотопа, присутствующего для данного атома. Меченные радиоактивным изотопом и изотопно обогащенные соединения применимы в качестве терапевтических средств, например, противораковых терапевтических средств, реагентов для исследований, например, реагентов для анализа связывания, и диагностических средств, например, средств для

10 визуализации *in vivo*. Предполагается, что все изотопные варианты соединения, описанного в данном документе, независимо от того, являются ли они радиоактивными или нет, охватываются объемом вариантов осуществления, предусмотренных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления предусмотрены изотопологи соединения, описанного в данном документе, например, изотопологи обогащены

15 дейтерием, углеродом-13 и/или азотом-15. Применяемый в данном документе термин "дейтерированный" означает соединение, в котором по меньшей мере один атом водорода (H) заменен дейтерием (обозначается как D или ^2H), то есть соединение обогащено дейтерием в по меньшей мере одном положении.

[0070] Следует отметить, что если имеется расхождение между изображенной

20 структурой и названием для этой структуры, то изображенной структуре придается большая значимость.

[0071] Применяемый в данном документе, и если не указано иное, термин "осуществление лечения" означает смягчение, полное или частичное, нарушения, заболевания или состояния, или одного или нескольких симптомов, ассоциированных с

25 нарушением, заболеванием или состоянием, или замедление или остановку дальнейшего прогрессирования или ухудшения этих симптомов, или смягчение или устранение причины(причин) нарушения, заболевания или состояния как такового.

[0072] Применяемый в данном документе, и если не указано иное, термин "предупреждение" означает способ задерживания и/или предотвращения начала,

30 рецидива или распространения, полностью или частично, нарушения, заболевания или состояния; недопущение возникновения у субъекта нарушения, заболевания или состояния, или снижение риска возникновения у субъекта нарушения, заболевания или состояния.

[0073] Применяемый в данном документе, и если не указано иное, термин "осуществление контроля" охватывает предупреждение рецидива конкретного заболевания или нарушения у пациента, который страдал им, удлинение времени сохранения ремиссии у пациента, который страдал заболеванием или нарушением, уменьшение показателей смертности пациентов и/или поддержание снижения тяжести или предотвращения симптома, ассоциированного с заболеванием или состоянием, подлежащим контролю.

[0074] Применяемый в данном документе, и если не указано иное, термин "эффективное количество" в связи с соединением означает количество, способное лечить, предупреждать или контролировать нарушение, заболевание или состояние или их симптомы.

[0075] Применяемый в данном документе, и если не указано иное, термин "субъект" или "пациент" включает животное, включая без ограничения животное, такое как корова, обезьяна, лошадь, овца, свинья, курица, индейка, перепел, кошка, собака, мышь, крыса, кролик или морская свинка, в одном варианте осуществления млекопитающее, в другом варианте осуществления человек.

[0076] Применяемый в данном документе, и если не указано иное, термин "рецидивирующий" относится к нарушению, заболеванию или состоянию, которое отвечало на лечение (например, характеризовалось достижением полного ответа), а затем прогрессировало. Лечение может включать одну или несколько линий терапии. В одном варианте осуществления нарушение, заболевание или состояние ранее лечили с помощью одной или нескольких линий терапии. В другом варианте осуществления нарушение, заболевание или состояние ранее лечили с помощью одной, двух, трех или четырех линий терапии. В некоторых вариантах осуществления нарушение, заболевание или состояние представляет собой гемобластоз.

[0077] Применяемый в данном документе, и если не указано иное, термин "рефрактерный" относится к нарушению, заболеванию или состоянию, которое не отвечало на предшествующее лечение, которое может включать одну или несколько линий терапии. В одном варианте осуществления нарушение, заболевание или состояние ранее лечили с помощью одной, двух, трех или четырех линий терапии. В другом варианте осуществления нарушение, заболевание или состояние ранее лечили с помощью двух или нескольких линий терапии, и оно характеризуется менее чем полным ответом (CR) на последнюю включающую системную терапию схему. В

некоторых вариантах осуществления нарушение, заболевание или состояние представляет собой гемобластоз.

[0078] В контексте рака, например, гемобластога, подавление может быть оценено посредством подавления прогрессирующего заболевания, подавления роста опухоли, уменьшения первичной опухоли, облегчения симптомов, связанных с опухолью, подавления факторов, секретируемых опухолью, задерживанию появления первичных или вторичных опухолей, замедления развития первичных или вторичных опухолей, снижения частоты возникновения первичных или вторичных опухолей, замедления или снижения тяжести вторичных эффектов заболевания, остановки роста опухоли и регрессии опухолей, увеличения времени до прогрессирующего (TTP), увеличения выживаемости без прогрессирующего (PFS), увеличения общей выживаемости (OS), среди прочего. OS, как применяется в данном документе, означает время от начала лечения до смерти по любой причине. TTP, как применяется в данном документе, означает время от начала лечения до прогрессирующего опухоли; TTP не включает случаи смерти. В одном варианте осуществления PFS означает время от начала лечения до прогрессирующего опухоли или смерти. В одном варианте осуществления PFS означает время от введения первой дозы соединения до первого случая прогрессирующего заболевания или смерти по любой причине. В одном варианте осуществления показатели PFS вычисляются с применением оценок Каплана-Мейера. Бессобытийная выживаемость (EFS) означает время от начала лечения до любого безрезультативного результата лечения, в том числе прогрессирующего заболевания, прекращения лечения по любой причине или смерти. В одном варианте осуществления общая частота ответа (ORR) означает процент пациентов, у которых достигается ответ. В одном варианте осуществления ORR означает сумму процента пациентов, у которых достигается полный и частичный ответы. В одном варианте осуществления ORR означает процент пациентов, у которых лучший ответ \geq частичного ответа (PR). В одном варианте осуществления продолжительность ответа (DoR) представляет собой время от достижения ответа до рецидива или прогрессирующего заболевания. В одном варианте осуществления DoR представляет собой время от достижения ответа \geq частичного ответа (PR) до рецидива или прогрессирующего заболевания. В одном варианте осуществления DoR представляет собой время от первого документального подтверждения ответа до первого документального подтверждения прогрессирующего заболевания или смерти. В одном варианте осуществления DoR представляет собой время от первого документального

подтверждения ответа \geq частичного ответа (PR) до первого документального подтверждения прогрессирования заболевания или смерти. В одном варианте осуществления время до ответа (TTR) означает время от введения первой дозы соединения до первого документального подтверждения ответа. В одном варианте осуществления TTR означает время от введения первой дозы соединения до первого документального подтверждения ответа \geq частичного ответа (PR). В исключительном случае полное подавление называются в данном документе как предупреждение или химиопрофилактика. В этом контексте термин "профилактика" включает либо предупреждение начала возникновения клинически очевидного рака в целом, либо предупреждение начала возникновения доклинически очевидной стадии рака. Также подразумевается, что это определение охватывает предупреждение трансформации в злокачественные клетки или остановку или обращение прогрессирования предраковых клеток в злокачественные клетки. Оно включает профилактическое лечение лиц, подверженных риску развития рака.

15 **[0079]** Применяемый в данном документе термин "множественная миелома" относится к гематологическим состояниям, характеризующимся злокачественными плазматическими клетками, и включает следующие нарушения: моноклональную гаммапатию неясного генеза (MGUS); множественную миелому низкого риска, промежуточного риска и высокого риска; впервые диагностированную множественную миелому (в том числе впервые диагностированную множественную миелому низкого риска, промежуточного риска и высокого риска); множественную миелому, удовлетворяющую критериям трансплантации и не удовлетворяющую критериям трансплантации; "тлеющую" (индолентную) множественную миелому (в том числе "тлеющую" множественную миелому низкого риска, промежуточного риска и высокого риска); активную множественную миелому; солитарную плазмоцитому; экстрамедуллярную плазмоцитому; лейкоз плазматических клеток; множественную миелому центральной нервной системы; миелому легких цепей; несекреторную миелому; миелому иммуноглобулина класса D; миелому иммуноглобулина класса E; и множественную миелому, характеризующуюся генетическими аномалиями, такими как транслокации циклина D (например, t(11;14)(q13;q32); t(6;14)(p21;32); t(12;14)(p13;q32); или t(6;20)); транслокации MMSET (например, t(4;14)(p16;q32)); транслокации MAF (например, t(14;16)(q32;q32); t(20;22); t(16; 22)(q11;q13); или t(14;20)(q32;q11)); или другие хромосомные факторы (например, делеция 17p13 или хромосомы 13; del(17/17p), отличное от гипердиплоидии состояние и приобретение

(1q)). В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется в соответствии с Международной системой стадирования множественной миеломы (ISS). В одном варианте осуществления множественная миелома представляет собой множественную миелому стадии I, характеризующуюся с помощью ISS (например, сывороточный β 2-микроглобулин $< 3,5$ мг/л и сывороточный альбумин $\geq 3,5$ г/дл). В одном варианте осуществления множественная миелома представляет собой множественную миелому стадии III, характеризующуюся с помощью ISS (например, сывороточный β 2-микроглобулин $> 5,4$ мг/л). В одном варианте осуществления множественная миелома представляет собой множественную миелому стадии II, характеризующуюся с помощью ISS (например, стадии, отличной от стадии I или III).

[0080] В определенных вариантах осуществления лечение множественной миеломы может быть оценено с помощью Международных единых критериев ответа для множественной миеломы (IURC) (см. Durie BGM, Harousseau J-L, Miguel JS, *et al.* International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*, 2006; (10) 10: 1-7), с применением определений ответа и конечной точки, представленных ниже.

Подкатегория ответа	Критерии ответа ^a
sCR	CR, как определено ниже, плюс нормальное соотношение FLC и отсутствие клональных клеток в костном мозге ^b по данным иммуногистохимии или иммунофлуоресценции ^c
CR	Отрицательная иммунофиксация в сыворотке крови и моче, и исчезновение любых плазмоцитом мягких тканей и $< 5\%$ плазматических клеток в костном мозге ^b
VGPR	M-белок в сыворотке крови и моче обнаруживается с помощью иммунофиксации, но не при электрофорезе, или снижение уровня M-белка в сыворотке крови и моче на 90% или выше плюс уровень M-белка < 100 мг за 24 ч

Подкатегория ответа	Критерии ответа ^a
PR	<p>Снижение уровня М-белка в сыворотке крови на $\geq 50\%$ и снижение уровня М-белка в моче за 24 часа на $\geq 90\%$ или до < 200 мг за 24 часа</p> <p>Если М-белок в сыворотке крови и моче не поддается измерению^d, вместо критериев М-белка требуется снижение разницы между уровнями активных и неактивных FLC на $\geq 50\%$</p> <p>Если М-белок в сыворотке крови и моче не поддается измерению, и световой анализ в сыворотке крови также не поддается измерению, требуется снижение количества плазматических клеток на $\geq 50\%$ вместо М-белка при условии, что процент плазматических клеток на исходном уровне в костном мозге составлял $\geq 30\%$</p> <p>В дополнение к вышеперечисленным критериям, если они присутствуют на исходном уровне, также требуется $\geq 50\%$ уменьшение размера плазмоцитом мягких тканей</p>
SD (не рекомендуется для применения в качестве индикатора ответа; стабильность заболевания лучше всего описывается с помощью получения оценок времени до прогрессирования)	Несоответствие критериям для CR, VGPR, PR или прогрессирования заболевания

Сокращения: CR, полный ответ; FLC, свободная легкая цепь; PR, частичный ответ; SD, стабильное заболевание; sCR, строгий полный ответ; VGPR, очень хороший частичный ответ.

^a Все категории ответа требуют двух последовательных оценок, проводимых в любое время до введения любого нового средства терапии; все категории также не требуют известных

5 доказательств прогрессирования или новых очагов поражений костей, если были выполнены рентгенографические исследования. Для удовлетворения этих требований к ответу не требуются рентгенографические исследования.

^b Подтверждение с помощью повторной биопсии костного мозга не является необходимой.

10 ^c Наличие/отсутствие клональных клеток основано на соотношении к/λ. Аномальное соотношение к/λ по данным иммуногистохимии и/или иммунофлуоресценции требует минимум 100 плазматических клеток для анализа. Аномальное соотношение, отражающее наличие аномального клона, составляет к/λ $>4:1$ или $<1:2$.

15 ^d Поддающееся измерению заболевание, определяемое как минимум одним из следующих показателей: плазматические клетки костного мозга $\geq 30\%$; М-белок сыворотки крови ≥ 1 г/дл (≥ 10 г/л)[10 г/л]; М-белок в моче ≥ 200 мг/24 ч; анализ FLC в сыворотке крови: уровень

вовлеченного FLC ≥ 10 мг/дл (≥ 100 мг/л); при условии, что соотношение FLC в сыворотке крови является аномальным.

[0081] Применяемый в данном документе статус по шкале ECOG относится к функциональному статусу по шкале Восточной объединенной онкологической группы (ECOG) (Oken M, *et al.* Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1982;5(6):649-655), как показано ниже.

Показатель	Описание
0	Полностью активен, способен осуществлять все функции, которые был способен осуществлять до заболевания, без ограничений
1	Ограничен в отношении физической нагрузки, но является амбулаторным пациентом и способен выполнять легкую или сидячую работу, например, легкую работу по дому, работу в офисе.
2	Амбулаторный пациент и способен к самообслуживанию, но не способен выполнять какие-либо активности, связанные с работой. Находится в состоянии бодрствования более приблизительно 50% активного времени суток.
3	Способен лишь к ограниченному самообслуживанию, прикован к постели или креслу более 50% активного времени суток.
4	Полностью недееспособен. Не способен к какому-либо самообслуживанию. Полностью прикован к постели или креслу
5	Мертв

[0082] В определенных вариантах осуществления стабильное заболевание или его отсутствие можно определить с помощью способов, известных в области техники, таких как оценка симптомов у пациента, физикальное обследование, визуализация опухоли, изображение которой было получено, например, с применением сканирования на основе FDG-ПЕТ (позитронно-эмиссионной томографии с фтордезоксиглюкозой), ПЕТ/СТ (позитронно-эмиссионной томографии/компьютерной томографии), MRI (магнитно-резонансной томографии) головного мозга и позвоночника, CSF (спинномозговая жидкость), офтальмологическое обследование, забор витреальной жидкости, фотография сетчатки, оценка костного мозга и другие общепринятые методы оценки.

[0083] Применяемые в данном документе, если не указано иное, термины "совместное введение" и "в комбинации с" включают введение одного или нескольких терапевтических средств (например, соединения, предусмотренного в данном документе, и другого противоракового средства или средства поддерживающей терапии) либо одновременно, либо параллельно, либо последовательно без каких-либо конкретных временных ограничений. В одном варианте осуществления средства присутствуют в клетке или в организме пациента в одно и то же время или оказывают свой биологический или терапевтический эффект в одно и то же время. В одном

варианте осуществления терапевтические средства находятся в одной и той же композиции или стандартной лекарственной форме. В другом варианте осуществления терапевтические средства находятся в отдельных композициях или стандартных лекарственных формах.

5 **[0084]** Термин "средство поддерживающей терапии" относится к любому веществу, которое обеспечивает лечение, предупреждение или контроль неблагоприятного эффекта от лечения другим терапевтическим средством.

[0085] Применяемый в данном документе термин "индукционная терапия" относится к первому лечению, назначаемому при заболевании, или первому лечению, назначаемому с целью вызвать полную ремиссию заболевания, такого как рак. При
10 применении сама по себе индукционная терапия признается лучшим доступным лечением. Если обнаружен остаточный рак, пациенты получают лечение с помощью другой терапии, называемой повторной индукционной. Если пациент находится в полной ремиссии после индукционной терапии, то назначают дополнительную
15 консолидирующую и/или поддерживающую терапию для продления ремиссии или потенциального излечения пациента.

[0086] Применяемый в данном документе термин "консолидирующая терапия" относится к лечению заболевания, назначаемому после впервые достигнутой ремиссии. Например, консолидирующая терапия рака представляет собой лечение, назначаемое
20 после того, как рак исчез после начальной терапии. Консолидирующая терапия может включать лучевую терапию, трансплантацию стволовых клеток или терапию рака с помощью лекарственных средств. Консолидирующую терапию также называют интенсифицирующей терапией и терапией после ремиссии.

[0087] Применяемый в данном документе термин "поддерживающая терапия" относится к лечению заболевания, назначаемому после достижения ремиссии или
25 наилучшего ответа с целью предупреждения или замедления рецидива. Поддерживающая терапия может включать химиотерапию, гормональную терапию или таргетную терапию.

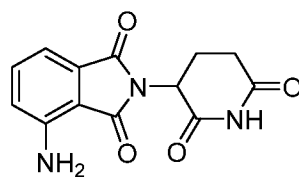
[0088] Применяемый в данном документе термин "ремиссия" представляет собой снижение проявления или исчезновение признаков и симптомов рака, например,
30 множественной миеломы. При частичной ремиссии исчезают некоторые, но не все признаки и симптомы рака. При полной ремиссии все признаки и симптомы рака исчезают, хотя рак все еще может оставаться в организме.

[0089] Применяемый в данном документе термин "трансплантат" относится к терапии высокими дозами с сохранением стволовых клеток. Гемопоэтические (кровяные) или стволовые клетки костного мозга применяются не в качестве лечения, но для сохранения жизни пациента после терапии высокими дозами, например, химиотерапии и/или облучения с помощью высоких доз. Трансплантат включает "аутологичный" трансплантат стволовых клеток (ASCT), который относится к применению собственных стволовых клеток пациентов, собранных и применяемых в качестве замещающих клеток. В некоторых вариантах осуществления трансплантат также включает тандемный трансплантат или множественные трансплантаты.

[0090] Термин "биологическая терапия" относится к введению биологических терапевтических средств, таких как пуповинная кровь, стволовые клетки, факторы роста и т. п.

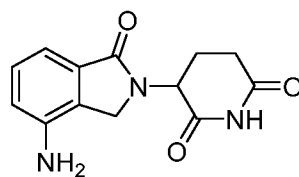
В. Соединения

[0091] Для применения в способах, предусмотренных в данном документе, предусмотрено соединение, представляющее собой 4-амино-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)изоиндолин-1,3-дион (соединение 1):



или его стереоизомер или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, пролекарство на его основе, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф. Соединение 1 также известно как помалидомид или Pom, как применяется в данном документе. В одном варианте осуществления соединение 1 применяют в способах, предусмотренных в данном документе.

[0092] Также для применения в способах, предусмотренных в данном документе, предусмотрено соединение, представляющее собой 3-(4-амино-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил)пиперидин-2,6-дион (соединение 2):

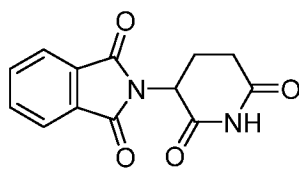


или его стереоизомер или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, пролекарство на его основе, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или

полиморф. Соединение 2 также известно как леналидомид или Len, как применяется в данном документе. В одном варианте осуществления соединение 2 применяется в способах, предусмотренных в данном документе.

[0093] Также для применения в способах, предусмотренных в данном

5 документе, предусмотрено соединение, представляющее собой 2-(2,6-диоксо-3-пиперидинил)-1H-изоиндол-1,3(2H)-дион (соединение 3):

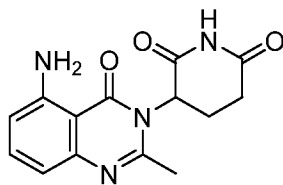


или его стереоизомер или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, пролекарство на его основе, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или

10 полиморф. Соединение 3 также известно как талидомид или Thal, как применяется в данном документе. В одном варианте осуществления соединение 3 применяется в способах, предусмотренных в данном документе.

[0094] Также для применения в способах, предусмотренных в данном

15 документе, предусмотрено соединение, представляющее собой 3-(5-амино-2-метил-4-оксо-4H-хиназолин-3-ил)-пиперидин-2,6-дион (соединение 4):

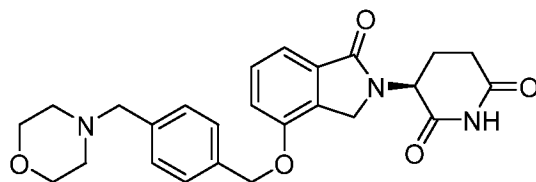


или его стереоизомер или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, пролекарство на его основе, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или

20 полиморф. Способ получения соединения 4 описан в патенте США № 7635700, который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления соединение 4 применяют в способах, предусмотренных в данном документе. В одном варианте осуществления гидрохлоридную соль соединения 4 применяют в способах, предусмотренных в данном документе.

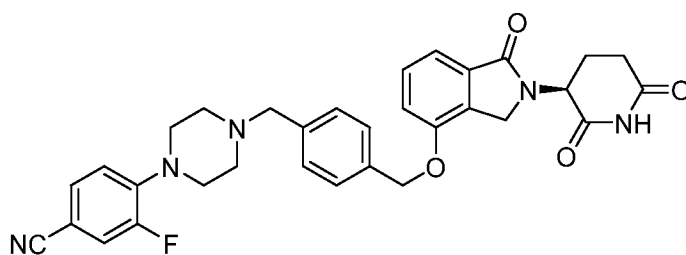
[0095] Также для применения в способах, предусмотренных в данном

25 документе, предусмотрено соединение, представляющее собой (S)-3-(4-((4-(морфолинометил)бензил)окси)-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-дион (соединение 5):



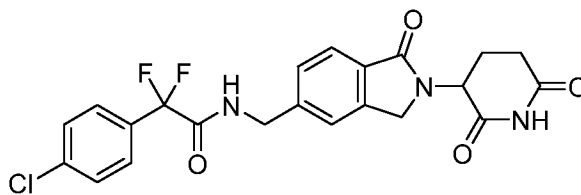
или его стереоизомер или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, пролекарство на его основе, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф. Способ получения соединения 5 описан в патенте США № 8518972, который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления соединение 5 применяют в способах, предусмотренных в данном документе. В одном варианте осуществления гидрохлоридную соль соединения 5 применяют в способах, предусмотренных в данном документе.

[0096] Также для применения в способах, предусмотренных в данном документе, предусмотрено соединение, представляющее собой (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрил (соединение 6):



или его стереоизомер или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, пролекарство на его основе, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф. Способ получения соединения 6 описан в патенте США № 10357489, который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления соединение 6 применяют в способах, предусмотренных в данном документе. В одном варианте осуществления гидробромидную соль соединения 6 применяют в способах, предусмотренных в данном документе.

[0097] Также для применения в способах, предусмотренных в данном документе, предусмотрено соединение, представляющее собой 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамид (соединение 7):

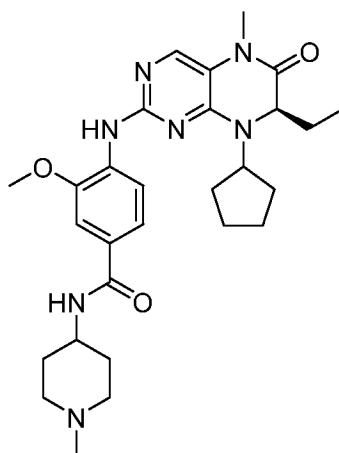


или его стереоизомер или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, пролекарство на его основе, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф. Способ получения соединения 7 описан в патенте США № 9499514, который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В одном варианте осуществления соединение 7 применяют в способах, предусмотренных в данном документе.

[0098] В одном варианте осуществления в способах, предусмотренных в данном документе, применяются изотопно обогащенные аналоги соединений.

10 **C. Вторые активные средства**

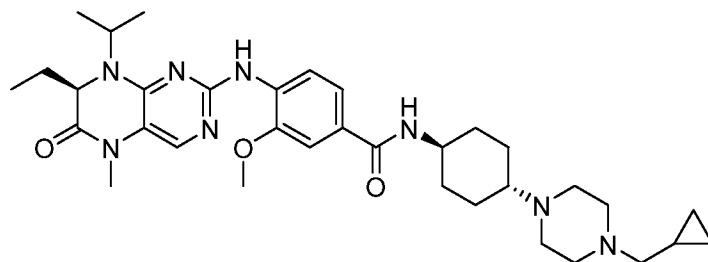
[0099] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор Polo-подобной киназы 1 (PLK1). В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 представляет собой BI2536 или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 представляет собой BI2536. BI2536 имеет химическое название (R)-4-((8-циклопентил-7-этил-5-метил-6-оксо-5,6,7,8-тетрагидроптеридин-2-ил)амино)-3-метокси-N-(1-метилпиперидин-4-ил)бензамид и характеризуется структурой:



20

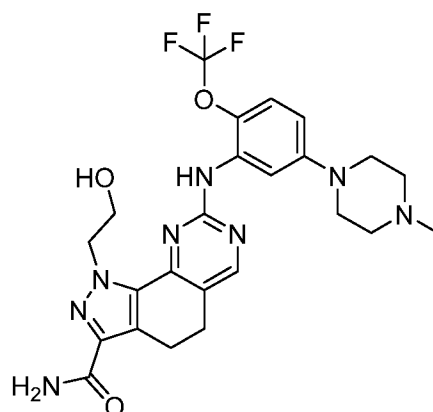
[00100] В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 представляет собой воласертиб или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор

PLK1 представляет собой воласертиб. Воласертиб (также известный как BI6727) характеризуется структурой:

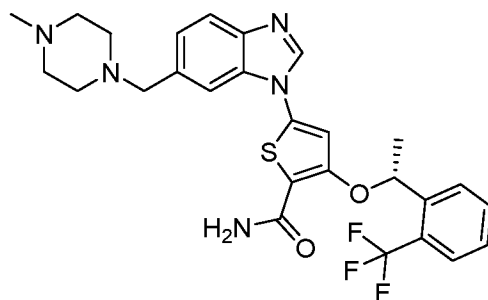


5 **[00101]** В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 представляет собой СYC140 или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.

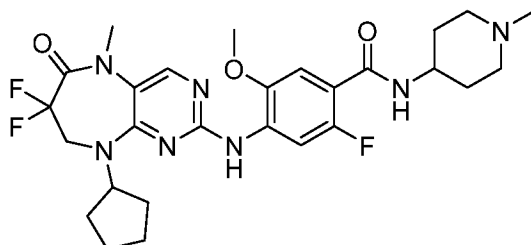
[00102] В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 представляет собой онвансертиб или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 представляет собой онвансертиб.
10 Онвансертиб (также известный как NMS-1286937) характеризуется структурой:



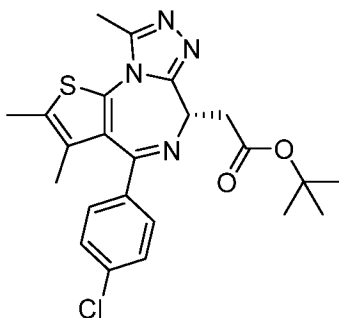
[00103] В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 представляет собой GSK461364 или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор
15 PLK1 представляет собой GSK461364. GSK461364 характеризуется структурой:



[00104] В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 представляет собой TAK960 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 представляет собой TAK960. В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 представляет собой гидрохлоридную соль TAK960. TAK960 характеризуется структурой:

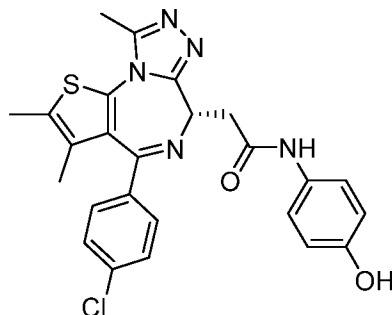


[00105] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор бромодомена 4 (BRD4). BRD4 является представителем семейства BET (бромодомена и экстратерминального домена). В одном варианте осуществления ингибитор BRD4 представляет собой JQ1 или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор BRD4 представляет собой JQ1. JQ1 имеет химическое название (*S*)-*трет*-бутил-2-(4-(4-хлорфенил)-2,3,9-триметил-6*H*-тиено[3,2-*f*][1,2,4]триазоло[4,3-*a*][1,4]дiazепин-6-ил)ацетат и характеризуется структурой:

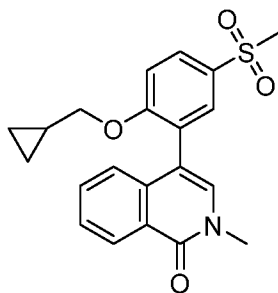


[00106] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор BET. В одном варианте осуществления ингибитор BET представляет собой бирабресиб или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор BET представляет собой бирабресиб. Бирабресиб (также известный как OTX015 или МК-8628) имеет химическое название (*S*)-2-(4-(4-хлорфенил)-2,3,9-триметил-6*H*-тиено[3,2-

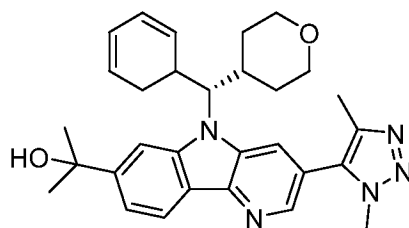
f[[1,2,4]триазоло[4,3-а][1,4]дiazепин-6-ил)-N-(4-гидроксифенил)ацетамид и характеризуется структурой:



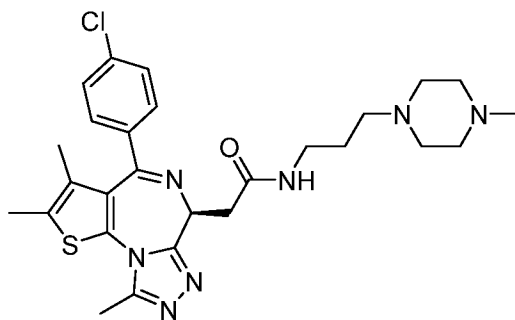
- 5 **[00107]** В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ представляет собой соединение А или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ представляет собой соединение А. Соединение А имеет химическое название 4-[2-(циклопропилметокси)-5-(метансульфонил)фенил]-2-метилизохинолин-1(2H)-он и характеризуется структурой:



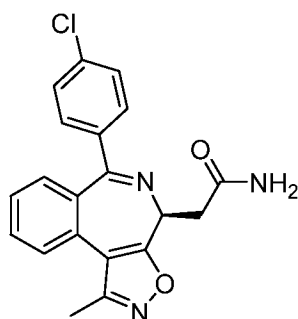
- 10 **[00108]** В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ представляет собой BMS-986158 или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ представляет собой BMS-986158. BMS-986158 характеризуется структурой:



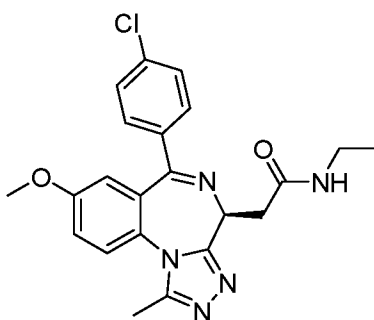
- 15 **[00109]** В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ представляет собой RO-6870810 или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ представляет собой RO-6870810. RO-6870810 характеризуется структурой:



[00110] В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ представляет собой CPI-0610 или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ
5 представляет собой CPI-0610. CPI-0610 характеризуется структурой:

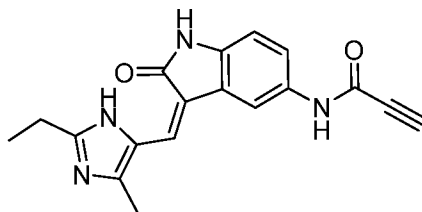


[00111] В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ представляет собой молибресиб или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ
10 представляет собой молибресиб. Молибресиб (также известный как GSK-525762) характеризуется структурой:

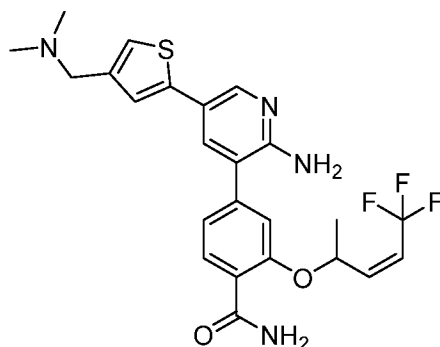


[00112] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой
15 ингибитор серин/треонин-протеинкиназы (NEK2). В одном варианте осуществления ингибитор NEK2 представляет собой JH295 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор NEK2 представляет собой JH295. JH295 имеет химическое название (Z)-N-(3-((2-этил-

4-метил-1H-имидазол-5-ил)метил)-2-оксоиндолин-5-ил)пропиоламид и характеризуется структурой:

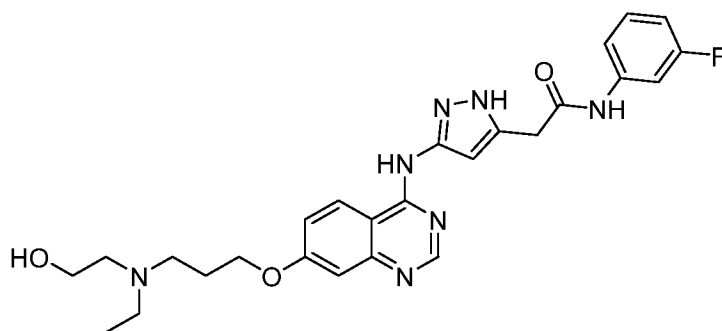


5 [00113] В одном варианте осуществления ингибитор NEK2 представляет собой гас-ССТ 250863 или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор NEK2 представляет собой гас-ССТ 250863. Рас-ССТ 250863 имеет химическое название 4-[2-амино-5-[4-[(диметиламино)метил]-2-тиенил]-3-пиридинил]-2-[[2-(Z)-4,4,4-трифтор-1-метил-2-бутен-1-ил]окси]бензамид и характеризуется структурой:

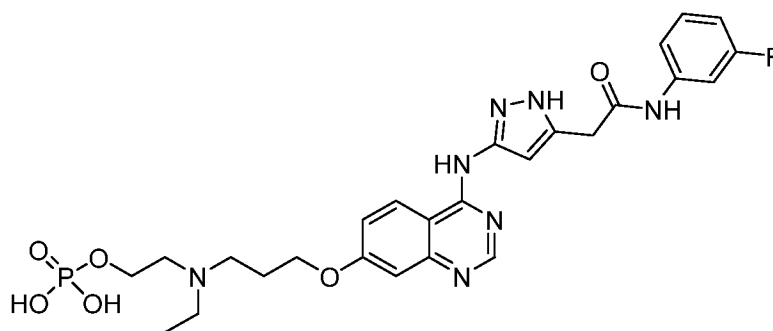


10

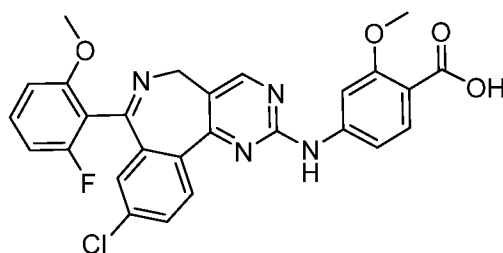
[00114] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор киназы Aurora B (AURKB). В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой барасертиб (известный также как AZD1152) или 15 AZD1152-HQPA, или их таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой барасертиб. В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой AZD1152-HQPA. AZD1152-HQPA (также известный как AZD2811) имеет химическое название 2-(3-((7-(3-(этил(2-гидроксиэтил)амино)пропокси)хиназолин-4-ил)амино)-1H- 20 пирозол-5-ил)-N-(3-фторфенил)ацетамид и характеризуется структурой:



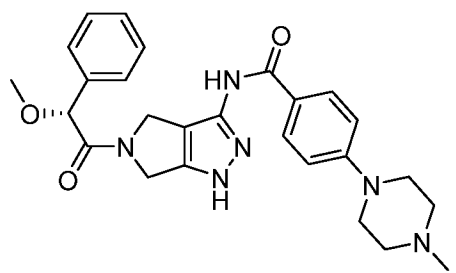
[00115] Барасертиб представляет собой дигидрофосфат пролекарства на основе AZD1152-HQPA и характеризуется структурой:



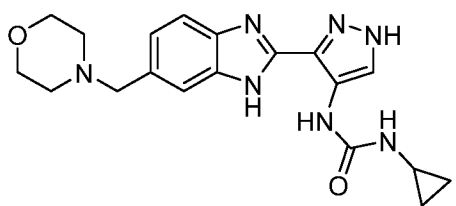
5 [00116] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой алисертиб или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор киназы AurogA A представляет собой алисертиб. Алисертиб имеет химическое название 4-((9-хлор-7-(2-фтор-6-метоксифенил)-5H-бензо[с]пиримидо[4,5-е]азепин-2-ил)амино)-2-метоксибензойная
10 кислота и характеризуется структурой:



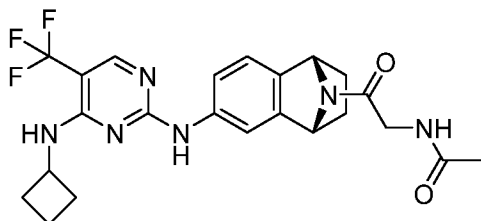
[00117] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой данусертиб или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор
15 AURKB представляет собой данусертиб. Данусертиб (также известный как PHA-739358) характеризуется структурой:



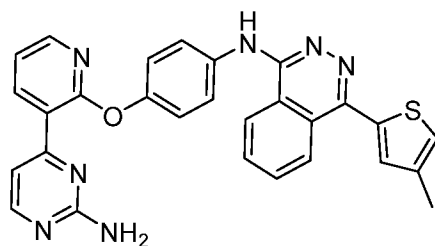
- [00118] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой AT9283 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор киназы Auroга A представляет собой
- 5 AT9283. AT9283 характеризуется структурой:



- [00119] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой PF-03814735 или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор
- 10 AURKB представляет собой PF-03814735. PF-03814735 характеризуется структурой:

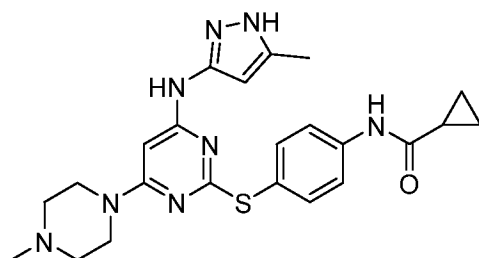


- [00120] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой AMG900 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор киназы Auroга A представляет собой
- 15 AMG900. AMG900 характеризуется структурой:

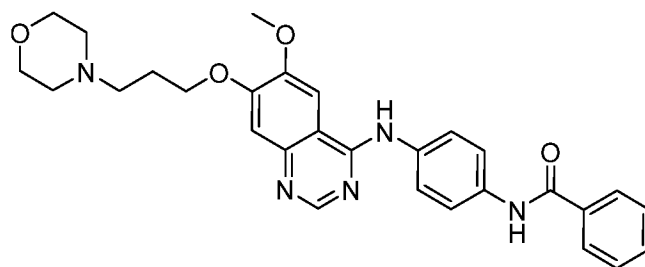


- [00121] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой тозасертиб или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В

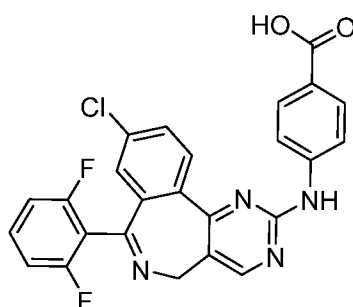
одном варианте осуществления ингибитор киназы Aurora A представляет собой тозасертиб. Тозасертиб (также известный как VX-680 или МК-0457) характеризуется структурой:



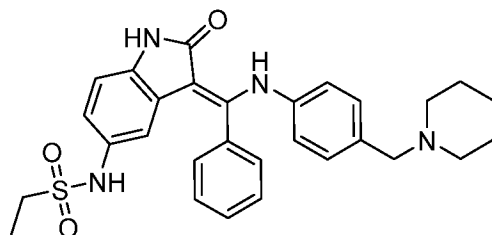
- 5 [00122] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой ZM447439 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор киназы Aurora A представляет собой ZM447439. ZM447439 характеризуется структурой:



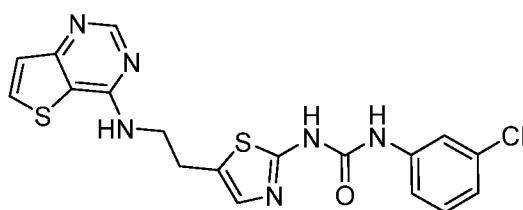
- 10 [00123] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой MLN8054 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор киназы Aurora A представляет собой MLN8054. MLN8054 характеризуется структурой:



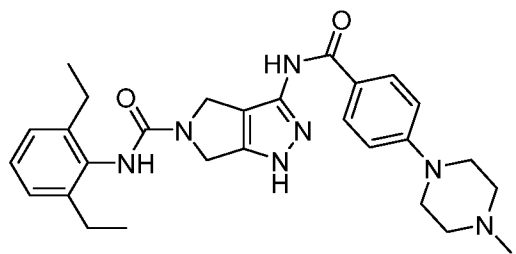
- 15 [00124] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой гесперадин или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор киназы Aurora A представляет собой гесперадин. В одном варианте осуществления ингибитор киназы Aurora A представляет собой гидрохлоридную соль гесперадина. Гесперадин характеризуется структурой:
- 20



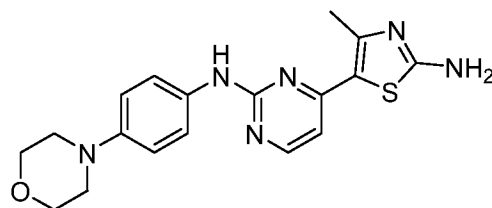
[00125] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой SNS-314 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор киназы Auroга A представляет собой SNS-314. В одном варианте осуществления ингибитор киназы Auroга A представляет собой мезилатную соль SNS-314. SNS-314 характеризуется структурой:



[00126] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой РНА-680632 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор киназы Auroга A представляет собой РНА-680632. РНА-680632 характеризуется структурой:

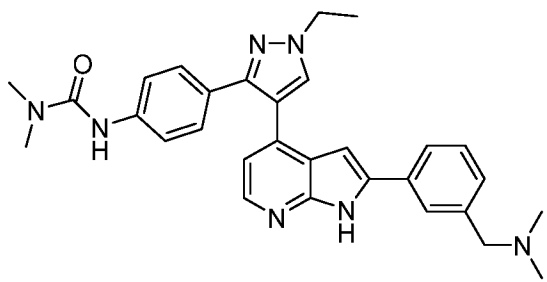


[00127] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой СУС116 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор киназы Auroга A представляет собой СУС116. СУС116 характеризуется структурой:

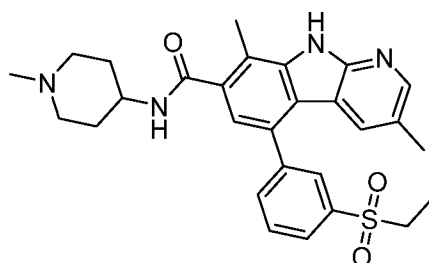


[00128] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой GSK1070916 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В

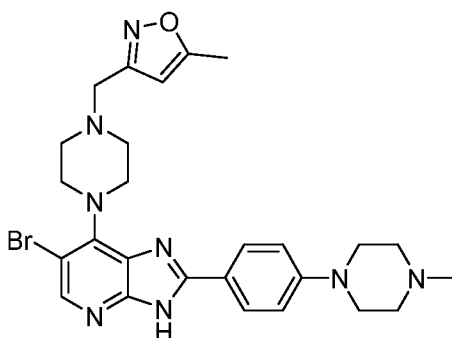
одном варианте осуществления ингибитор киназы Aurora A представляет собой GSK1070916. GSK1070916 характеризуется структурой:



[00129] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой
5 ТАК-901 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор киназы Aurora A представляет собой ТАК-901. ТАК-901 характеризуется структурой:



[00130] В одном варианте осуществления ингибитор AURKB представляет собой
10 ССТ137690 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор киназы Aurora A представляет собой ССТ137690. ССТ137690 характеризуется структурой:



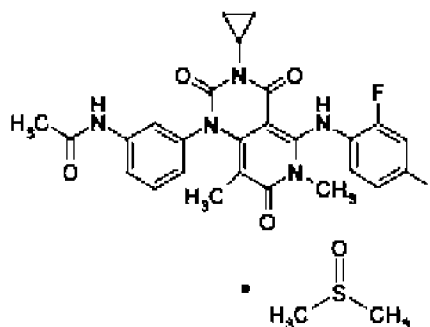
[00131] В одном варианте осуществления второе активное средство,
15 применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор митоген-активируемой киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (МЕК). В одном варианте осуществления ингибитор МЕК нарушает функцию каскада передачи сигнала RAF/RAS/МЕК. В одном варианте осуществления ингибитор МЕК представляет собой траметиниб, траметиниба диметилсульфоксид, кобиметиниб,

биниметиниб или селуметиниб, или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор MEK представляет собой траметиниб или траметиниба диметилсульфоксид или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или

5 фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор MEK представляет собой траметиниб. В одном варианте осуществления ингибитор MEK представляет собой траметиниба диметилсульфоксид. В одном варианте осуществления ингибитор MEK представляет собой кобиметиниб. В одном варианте осуществления ингибитор MEK представляет собой биниметиниб. В одном варианте

10 осуществления ингибитор MEK представляет собой селуметиниб. Траметиниба диметилсульфоксид имеет химическое название N-[3-[3-циклопропил-5-[(2-фтор-4-йодофенил)амино]-3,4,6,7-тетрагидро-6,8-диметил-2,4,7-триоксопиридо[4,3-d]пиримидин-1(2H)-ил]фенил]ацетамид, представляющее собой соединение с диметилсульфоксидом (1:1). Траметиниба диметилсульфоксид характеризуется

15 структурой:

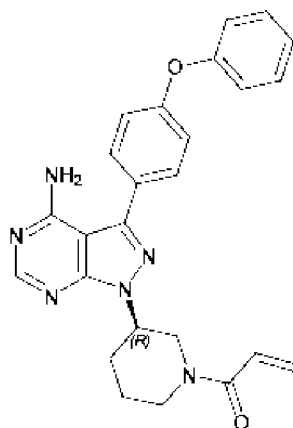


[00132] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор белка "с пальцами" 19 PHD (PHF19).

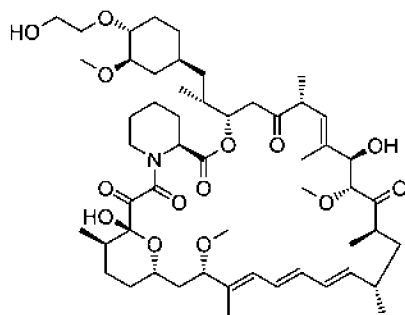
20 **[00133]** В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор тирозинкиназы Брутона (ВТК). В одном варианте осуществления ингибитор ВТК представляет собой ибрутиниб или акалабрутиниб, или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В

25 одном варианте осуществления ингибитор ВТК представляет собой ибрутиниб или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор ВТК представляет собой ибрутиниб. В одном варианте осуществления ингибитор ВТК представляет

собой акалабрутиниб. Ибрутиниб имеет химическое название 1-[(3*R*)-3-[4-амино-3-(4-феноксифенил)-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-1-ил]-1-пиперидинил]-2-пропен-1-он и характеризуется структурой:

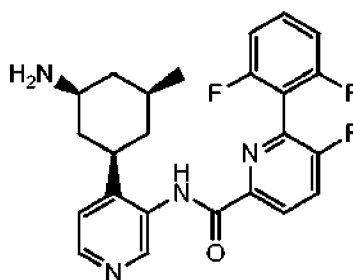


- 5 [00134] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор мишени рапамицина у млекопитающих (mTOR). В одном варианте осуществления ингибитор mTOR представляет собой рапамицин или его аналог (также называемый рапалог). В одном варианте осуществления ингибитор mTOR
- 10 представляет собой эверолимус или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор mTOR представляет собой эверолимус. Эверолимус имеет химическое название 4*O*-(2-гидроксиэтил)-рапамицин и характеризуется структурой:



- 15 [00135] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор участка интеграции провируса для киназы мышиноного лейкоза Молони (PIM). В одном варианте осуществления ингибитор PIM представляет собой ингибитор ran-PIM. В одном варианте осуществления ингибитор PIM представляет собой LGH-
- 20 447, AZD1208, SGI-1776 или TP-3654 или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте

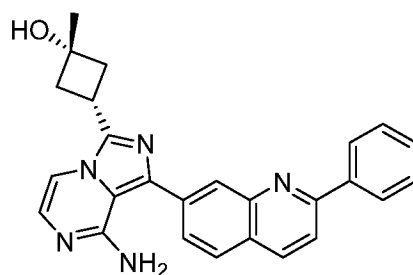
осуществления ингибитор P1M представляет собой LGH-447 или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор P1M представляет собой LGH-447. В одном варианте осуществления ингибитор P1M представляет собой фармацевтически приемлемую соль LGH-447. В одном варианте осуществления ингибитор P1M представляет собой гидрохлоридную соль LGH-447. В одном варианте осуществления хлористоводородная соль LGH-447 представляет собой дигидрохлоридную соль. В одном варианте осуществления хлористоводородную соль LGH-447 представляет собой моногидрохлоридную соль. В одном варианте осуществления ингибитор P1M представляет собой AZD1208. В одном варианте осуществления ингибитор P1M представляет собой SGI-1776. В одном варианте осуществления ингибитор P1M представляет собой TP-3654. LGH-447 имеет химическое название N-[4-[(1R,3S,5S)-3-амино-5-метилциклогексил]-3-пиридирил]-6-(2,6-дифторфенил)-5-фтор-2-пиридинкарбоксамид и характеризуется структурой:



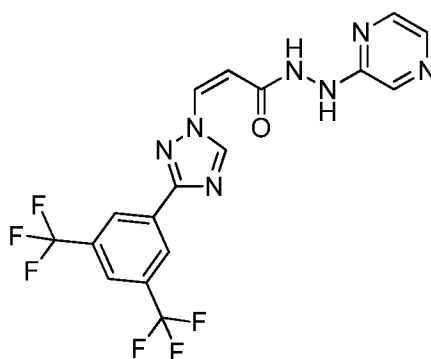
15

[00136] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1R). В одном варианте осуществления ингибитор IGF-1R представляет собой линситиниб или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор IGF-1R представляет собой линситиниб. Линситиниб имеет химическое название *цис*-3-[8-амино-1-(2-фенил-7-хинолинил)имидазо[1,5-а]пирозин-3-ил]-1-метилциклобутанол и характеризуется структурой:

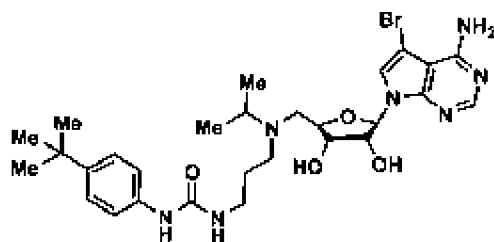
20



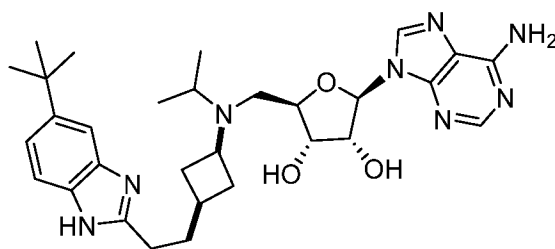
[00137] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор экспортина 1 (XPO1). В одном варианте осуществления ингибитор XPO1 представляет собой селинексор или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор XPO1 представляет собой селинексор. Селинексор имеет химическое название (2Z)-3-{3-[3,5-бис(трифторметил)фенил]-1H-1,2,4-триазол-1-ил}-N'-(пирозин-2-ил)проп-2-енгидразид и характеризуется структурой:



[00138] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор дезинтегратора сайленсинга теломер, подобного фактору 1 (DOT1L). В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L представляет собой SGC0946 или пинометостат, или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L представляет собой SGC0946 или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L представляет собой SGC0946. SGC0946 имеет химическое название 5-бром-7-[5-дезоксидезокси-5-[[3-[[[4-(1,1-диметилэтил)фенил]амино]карбонил]амино]пропил](1-метилэтил)амино]-β-D-рибофуранозил]-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-амин и характеризуется структурой:

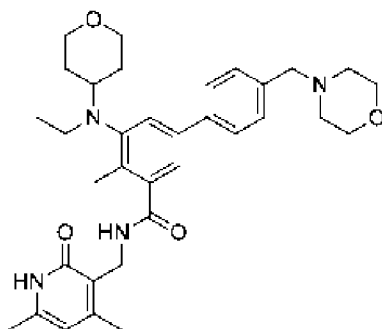


[00139] В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L представляет собой пинометостат или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L представляет собой пинометостат. Пинометостат (также известный как EPZ-5676) имеет химическое название (2R,3R,4S,5R)-2-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-5-(((1r,3S)-3-(2-(5-(трет-бутил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)этил)циклобутил)(изопропил)амино)метил)тетрагидрофуран-3,4-диол и характеризуется структурой:

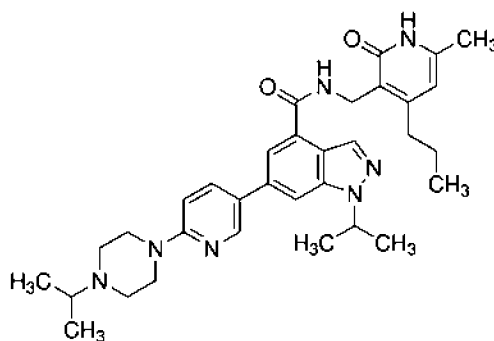


[00140] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой усилитель ингибитора гомолога 2 Zeste-белка (EZH2). В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 представляет собой таземетостат, 3-деазанепланоцин А (DZNep), EPZ005687, EI1, GSK126, UNC1999, CPI-1205 или синефунгин, или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 представляет собой таземетостат или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 представляет собой таземетостат. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 представляет собой 3-деазанепланоцин А. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 представляет собой EPZ005687. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 представляет собой EI1. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 представляет собой GSK126. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 представляет собой синефунгин. Таземетостат (также известный как EPZ-6438) имеет химическое название N-[(1,2-дигидро-4,6-диметил-2-оксо-3-пиридинил)метил]-5-

[этил(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)амино]-4-метил-4'-(4-морфолинилметил)-[1,1'-бифенил]-3-карбоксамид и характеризуется структурой:

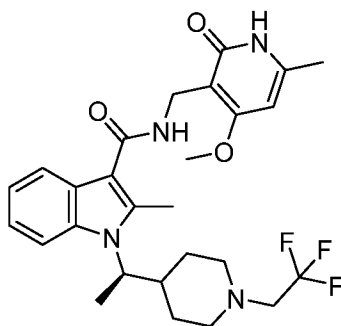


[00141] В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 представляет собой
 5 UNC1999 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В
 одном варианте осуществления ингибитор EZH2 представляет собой UNC1999.
 UNC1999 имеет химическое название 1-изопропил-6-(6-(4-изопропилпиперазин-1-
 ил)пиридин-3-ил)-N-((6-метил-2-оксо-4-пропил-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)-1H-
 индазол-4-карбоксамид и характеризуется структурой:

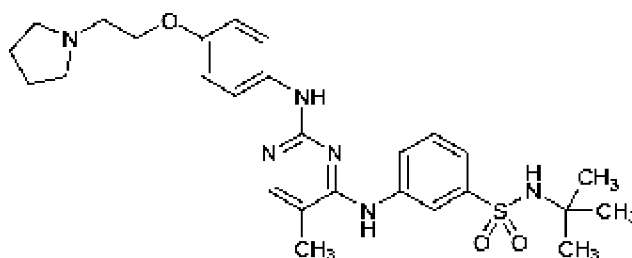


10

[00142] В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 представляет собой
 CPI-1205 или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или
 фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор
 EZH2 представляет собой CPI-1205. CPI-1205 имеет химическое название (R)-N-((4-
 15 метокси-6-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)метил)-2-метил-1-(1-(1-(2,2,2-
 трифторэтил)пиперидин-4-ил)этил)-1H-индол-3-карбоксамид и характеризуется
 структурой:



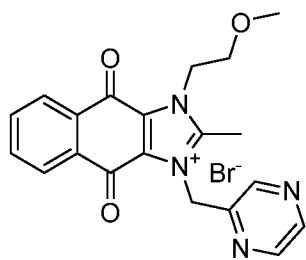
[00143] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор Янус-киназы 2 (JAK2). В одном варианте осуществления ингибитор JAK2 представляет собой федратиниб, руксолитиниб, барицитиниб, гандотиниб, лестауртиниб, момелотиниб или пакритиниб, или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор JAK2 представляет собой федратиниб или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор JAK2 представляет собой федратиниб. В одном варианте осуществления ингибитор JAK2 представляет собой руксолитиниб. В одном варианте осуществления ингибитор JAK2 представляет собой барицитиниб. В одном варианте осуществления ингибитор JAK2 представляет собой гандотиниб. В одном варианте осуществления ингибитор JAK2 представляет собой лестауртиниб. В одном варианте осуществления ингибитор JAK2 представляет собой момелотиниб. В одном варианте осуществления ингибитор JAK2 представляет собой пакритиниб. Федратиниб имеет химическое название N-трет-бутил-3-[(5-метил-2-{4-[2-(пирролидин-1-ил)этокси]анилино}пиримидин-4-ил)амино]бензолсульфонамид и характеризуется структурой:



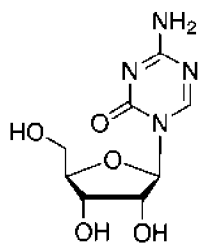
20

[00144] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор сурвивина (также называемый бакуловиральным ингибитором мотива

апоптозных повторов 5, или BIRC5). В одном варианте осуществления ингибитор BIRC5 представляет собой YM155 или его таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления ингибитор BIRC5 представляет собой YM155. YM155 имеет химическое название 1-(2-метоксиэтил)-2-метил-4,9-диоксо-3-(пиразин-2-илметил)-4,9-дигидро-1H-нафто[2,3-d]имидазол-3-ия бромид и характеризуется структурой:



[00145] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор ДНК-метилтрансферазы. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы представляет собой азациитидин или его стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте осуществления гипометилирующее средство представляет собой азациитидин. Азациитидин (также известный как азациитидин или 5-азациитидин) имеет химическое название 4-амино-1-β-D-рибофуранозил-1,3,5-триазин-2(1H)-он и характеризуется структурой:



D. Способы применения

[00146] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения 1 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации со вторым средством, где второе средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1 (например, BI2536), ингибитора BRD4 (например, JQ1), ингибитора BET (например, соединения A), ингибитора NEK2

(например, JH295), ингибитора AURKB (например, AZD1152), ингибитора MEK (например, траметиниба), ингибитора PHF19, ингибитора BTK (например, ибрутиниба), ингибитора mTOR (например, эверолимуса), ингибитора PIM (например, LGH-447), ингибитора IGF-1R (например, линситиниба), ингибитора XPO1 (например, селинексора), ингибитора DOT1L (например, SGC0946 или пинометостата), ингибитора EZH2 (например, таземетостата, UNC1999 или CPI-1205), ингибитора JAK2 (например, федратиниба), ингибитора BIRC5 (например, YM155) или ингибитора ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидина).

[00147] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения 2 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации со вторым средством, где второе средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1 (например, BI2536), ингибитора BRD4 (например, JQ1), ингибитора BET (например, соединения A), ингибитора NEK2 (например, JH295), ингибитора AURKB (например, AZD1152), ингибитора MEK (например, траметиниба), ингибитора PHF19, ингибитора BTK (например, ибрутиниба), ингибитора mTOR (например, эверолимуса), ингибитора PIM (например, LGH-447), ингибитора IGF-1R (например, линситиниба), ингибитора XPO1 (например, селинексора), ингибитора DOT1L (например, SGC0946 или пинометостата), ингибитора EZH2 (например, таземетостата, UNC1999 или CPI-1205), ингибитора JAK2 (например, федратиниба), ингибитора BIRC5 (например, YM155) или ингибитора ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидина).

[00148] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения 3 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации со вторым средством, где второе средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1 (например, BI2536), ингибитора BRD4 (например, JQ1), ингибитора BET (например, соединения A), ингибитора NEK2 (например, JH295), ингибитора AURKB (например, AZD1152), ингибитора MEK (например, траметиниба), ингибитора PHF19, ингибитора BTK (например,

ибрутиниба), ингибитора mTOR (например, эверолимуса), ингибитора PIM (например, LGH-447), ингибитора IGF-1R (например, линситиниба), ингибитора XPO1 (например, селинексора), ингибитора DOT1L (например, SGC0946 или пинометостата), ингибитора EZH2 (например, таземетостата, UNC1999 или CPI-1205), ингибитора JAK2 (например, федратиниба), ингибитора BIRC5 (например, YM155) или ингибитора ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидина).

[00149] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения 4 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации со вторым средством, где второе средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1 (например, BI2536), ингибитора BRD4 (например, JQ1), ингибитора BET (например, соединения A), ингибитора NEK2 (например, JH295), ингибитора AURKB (например, AZD1152), ингибитора MEK (например, траметиниба), ингибитора PHF19, ингибитора ВТК (например, ибрутиниба), ингибитора mTOR (например, эверолимуса), ингибитора PIM (например, LGH-447), ингибитора IGF-1R (например, линситиниба), ингибитора XPO1 (например, селинексора), ингибитора DOT1L (например, SGC0946 или пинометостата), ингибитора EZH2 (например, таземетостата, UNC1999 или CPI-1205), ингибитора JAK2 (например, федратиниба), ингибитора BIRC5 (например, YM155) или ингибитора ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидина).

[00150] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения 5 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации со вторым средством, где второе средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1 (например, BI2536), ингибитора BRD4 (например, JQ1), ингибитора BET (например, соединения A), ингибитора NEK2 (например, JH295), ингибитора AURKB (например, AZD1152), ингибитора MEK (например, траметиниба), ингибитора PHF19, ингибитора ВТК (например, ибрутиниба), ингибитора mTOR (например, эверолимуса), ингибитора PIM (например, LGH-447), ингибитора IGF-1R (например, линситиниба), ингибитора XPO1 (например,

селинексора), ингибитора DOT1L (например, SGC0946 или пинометостата), ингибитора EZH2 (например, таземетостата, UNC1999 или CPI-1205), ингибитора JAK2 (например, федратиниба), ингибитора BIRC5 (например, YM155) или ингибитора ДНК-метилтрансферазы (например, азациитидина).

5 **[00151]** В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения 6 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или

10 полиморфа в комбинации со вторым средством, где второе средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1 (например, BI2536), ингибитора BRD4 (например, JQ1), ингибитора BET (например, соединения А), ингибитора NEK2 (например, JH295), ингибитора AURKB (например, AZD1152), ингибитора MEK (например, траметиниба), ингибитора PHF19, ингибитора ВТК (например,

15 ибрутиниба), ингибитора mTOR (например, эверолимуса), ингибитора PIM (например, LGH-447), ингибитора IGF-1R (например, линситиниба), ингибитора XPO1 (например, селинексора), ингибитора DOT1L (например, SGC0946 или пинометостата), ингибитора EZH2 (например, таземетостата, UNC1999 или CPI-1205), ингибитора JAK2 (например, федратиниба), ингибитора BIRC5 (например, YM155) или ингибитора

20 ДНК-метилтрансферазы (например, азациитидина).

[00152] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения 7 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или

25 полиморфа в комбинации со вторым средством, где второе средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1 (например, BI2536), ингибитора BRD4 (например, JQ1), ингибитора BET (например, соединения А), ингибитора NEK2 (например, JH295), ингибитора AURKB (например, AZD1152), ингибитора MEK (например, траметиниба), ингибитора PHF19, ингибитора ВТК (например,

30 ибрутиниба), ингибитора mTOR (например, эверолимуса), ингибитора PIM (например, LGH-447), ингибитора IGF-1R (например, линситиниб), ингибитора XPO1 (например, селинексор), ингибитора DOT1L (например, SGC0946 или пинометостата), ингибитора EZH2 (например, таземетостата, UNC1999 или CPI-1205), ингибитора JAK2 (например,

федратиниба), ингибитора BIRC5 (например, YM155) или ингибитора ДНК-метилтрансферазы (например, азациитидина).

[00153] В одном варианте осуществления рак представляет собой гемобластоз.

[00154] В одном варианте осуществления рак представляет собой лейкоз. В
5 одном варианте осуществления рак представляет собой острый миелоидный лейкоз. В одном варианте осуществления острый миелоидный лейкоз представляет собой острый В-клеточный миелоидный лейкоз. В одном варианте осуществления рак представляет собой острый лимфоцитарный лейкоз. В одном варианте осуществления рак представляет собой хронический лимфолейкоз/хроническую мелкоклеточную
10 лимфоцитарную лимфому.

[00155] В одном варианте осуществления рак представляет собой В-клеточное злокачественное новообразование.

[00156] В одном варианте осуществления рак представляет собой лимфому. В одном варианте осуществления рак представляет собой неходжкинскую лимфому. В
15 одном варианте осуществления рак представляет собой диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL). В одном варианте осуществления рак представляет собой лимфому из клеток мантийной зоны (MCL). В одном варианте осуществления рак представляет собой лимфому маргинальной зоны (MZL). В одном варианте осуществления лимфома маргинальной зоны представляет собой лимфому
20 маргинальной зоны селезенки (SMZL). В одном варианте осуществления рак представляет собой индолентную фолликулярную клеточную лимфому (iFCL). В одном варианте осуществления рак представляет собой лимфому Беркитта.

[00157] В одном варианте осуществления рак представляет собой Т-клеточную лимфому. В одном варианте осуществления Т-клеточная лимфома представляет собой
25 анапластическую крупноклеточную лимфому (ALCL). В одном варианте осуществления Т-клеточная лимфома представляет собой синдром Сезари.

[00158] В одном варианте осуществления рак представляет собой лимфому Ходжкина.

[00159] В одном варианте осуществления рак представляет собой
30 миелодиспластические синдромы.

[00160] В одном варианте осуществления рак представляет собой миелому. В одном варианте осуществления рак представляет собой множественную миелому. В одном варианте осуществления множественная миелома представляет собой лейкоз плазматических клеток (PCL).

[00161] В одном варианте осуществления множественная миелома представляет собой впервые диагностированную множественную миелому.

[00162] В одном варианте осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной. В одном варианте осуществления множественная миелома является рефрактерной в отношении леналидомида. В одном варианте осуществления множественная миелома является рефрактерной в отношении помалидомида. В одном варианте осуществления множественная миелома является рефрактерной в отношении помалидомида при применении в комбинации с ингибитором протеасом. В одном варианте осуществления ингибитор протеасом выбран из бортезомиба, карфилзомиба и иксазомиба. В одном варианте осуществления множественная миелома является рефрактерной в отношении помалидомида при применении в комбинации с воспалительным стероидом. В одном варианте осуществления воспалительный стероид выбран из дексаметазона или преднизона. В одном варианте осуществления множественная миелома является рефрактерной в отношении помалидомида при применении в комбинации с моноклональным антителом, направленным на CD38.

[00163] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрены способы достижения полного ответа, частичного ответа или стабильного заболевания у пациента, включающие введение пациенту, имеющему рак, предусмотренный в данном документе, терапевтически эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе.

[00164] В одном варианте осуществления в данном документе также предусмотрены способы индукции терапевтического ответа, оцениваемого с помощью Международных единых критериев ответа для множественной миеломы (IURC) (см. Durie BGM, Harousseau J-L, Miguel JS, *et al.* International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*, 2006; (10) 10: 1-7), у пациента, включающие введение пациенту, имеющему множественную миелому, эффективного количества терапевтически эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе.

[00165] В другом варианте осуществления в данном документе предусмотрены способы достижения строгого полного ответа, полного ответа или очень хорошего частичного ответа, как определено Международными едиными критериями ответа для

множественной миеломы (IURC), у пациента, включающие введение пациенту, имеющему множественную миелому, эффективного количества терапевтически эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе.

5 **[00166]** В другом варианте осуществления в данном документе предусмотрены способы достижения повышения общей выживаемости, выживаемости без прогрессирования, бессобытийной выживаемости, времени до прогрессирования или выживаемости без заболевания у пациента, включающие введение пациенту, имеющему множественную миелому, эффективного количества терапевтически эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе.

10 **[00167]** В другом варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ выявления субъекта, имеющего гематологический рак, который, вероятно, отвечает на соединение, обеспечивающее лечение, в комбинации со вторым средством, или прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего гематологический рак, в отношении соединения, обеспечивающего лечение, в комбинации со вторым средством, включающий:

- a. получение образца от субъекта;
- b. определение уровня биомаркера в образце;
- 20 c. диагностирование субъекта как, вероятно, отвечающего на соединение, обеспечивающее лечение, в комбинации со вторым средством, если уровень биомаркера представляет собой измененный уровень по сравнению с эталонным уровнем биомаркера.

[00168] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления селективного лечения гематологического рака у субъекта, имеющего гематологический рак, включающий:

- a. получение образца от субъекта;
- b. определение уровня биомаркера в образце;
- c. диагностирование субъекта как, вероятно, отвечающего на соединение, обеспечивающее лечение, в комбинации со вторым средством, если уровень биомаркера представляет собой измененный уровень по сравнению с эталонным уровнем биомаркера; и
- 30 d. введение терапевтически эффективного количества соединения, обеспечивающего лечение, в комбинации со вторым средством субъекту,

диагностированному как, вероятно, отвечающий на соединение, обеспечивающее лечение, в комбинации со вторым средством.

[00169] В одном варианте осуществления биомаркер представляет собой экспрессию гена или комбинации генов, выбранных из BRD4, PLK1, AURKB, PHF19, NEK2, MEK, BTK, MTOR, PIM, IGF-1R, XPO1, DOT1L, EZH2, JAK2 и BIRC5.

[00170] В одном варианте осуществления измененный уровень представляет собой повышенный уровень относительно эталонного уровня биомаркера. В одном варианте осуществления измененный уровень представляет собой пониженный уровень относительно эталонного уровня биомаркера.

[00171] В одном варианте осуществления соединение, обеспечивающее лечение, представляет собой соединение, предусмотренное в данном документе (например, соединение 1, соединение 2, соединение 3, соединение 4, соединение 5, соединение 6 или соединение 7 или их стереоизомер или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, пролекарство на их основе, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф).

[00172] В одном варианте осуществления второе средство представляет собой второе средство, предусмотренное в данном документе: ингибитор PLK1 (например, BI2536), ингибитор BRD4 (например, JQ1), ингибитор BET (например, соединение A), ингибитор NEK2 (например, JH295), ингибитор AURKB (например, AZD1152), ингибитор MEK (например, траметиниб), ингибитор PHF19, ингибитор BTK (например, ибрутиниб), ингибитор mTOR (например, эверолимус), ингибитор PIM (например, LGH-447), ингибитор IGF-1R (например, линситиниб), ингибитор XPO1 (например, селинексор), ингибитор DOT1L (например, SGC0946 или пинOMETостат), ингибитор EZH2 (например, таземетостат, UNC1999 или CPI-1205), ингибитор JAK2 (например, федратиниб), ингибитор BIRC5 (например, YM155) или ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин).

[00173] В одном варианте осуществления биомаркер представляет собой ген PLK1, соединение, обеспечивающее лечение, представляет собой соединение 5 или его стереоизомер или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, пролекарство на его основе, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф, и второе средство представляет собой ингибитор PLK1.

[00174] В одном варианте осуществления биомаркер представляет собой ген PLK1, соединение, обеспечивающее лечение, представляет собой соединение 6 или его стереоизомер или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль,

таутомер, пролекарство на его основе, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф, и второе средство представляет собой ингибитор PLK1.

[00175] В одном варианте осуществления биомаркер представляет собой ген BRD4, соединение, обеспечивающее лечение, представляет собой соединение 5 или его стереоизомер или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, пролекарство на его основе, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф, и второе средство представляет собой ингибитор BRD4.

[00176] В одном варианте осуществления биомаркер представляет собой ген BRD4, соединение, обеспечивающее лечение, представляет собой соединение 6 или его стереоизомер или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, пролекарство на его основе, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф, и второе средство представляет собой ингибитор BRD4.

[00177] В одном варианте осуществления биомаркер представляет собой ген NEK2, соединение, обеспечивающее лечение, представляет собой соединение 5 или его стереоизомер или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, пролекарство на его основе, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф, и второе средство представляет собой ингибитор NEK2.

[00178] В одном варианте осуществления биомаркер представляет собой ген NEK2, соединение, обеспечивающее лечение, представляет собой соединение 6 или его стереоизомер или смесь стереоизомеров, фармацевтически приемлемую соль, таутомер, пролекарство на его основе, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф, и второе средство представляет собой ингибитор NEK2.

[00179] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором PLK1. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1 в комбинации с BI2536.

[00180] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1 или его стереоизомера или

смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором BRD4. В одном варианте осуществления в данном документе
5 предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1 в комбинации с JQ1.

[00181] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту
10 терапевтически эффективного количества соединения 1 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором BET. В одном варианте осуществления в данном документе
15 предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1 в комбинации с соединением А.

[00182] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту
20 терапевтически эффективного количества соединения 1 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором NEK2. В одном варианте осуществления в данном документе
25 предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 1 в комбинации с гас-ССТ 250863.

[00183] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту
30 терапевтически эффективного количества соединения 2 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором PLK1. В одном варианте осуществления в данном документе
предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который

включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 2 в комбинации с BI2536.

[00184] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту

5 терапевтически эффективного количества соединения 2 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором BRD4. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который

10 включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 2 в комбинации с JQ1.

[00185] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту

15 терапевтически эффективного количества соединения 2 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором BET. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который

20 включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 2 в комбинации с соединением А.

[00186] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту

25 терапевтически эффективного количества соединения 2 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором NEK2. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который

30 включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 2 в комбинации с JH295. В одном варианте осуществления в данном документе

предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который

включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 2 в комбинации с гас-ССТ 250863.

[00187] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту

терапевтически эффективного количества соединения 3 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором PLK1. В одном варианте осуществления в данном документе

5 предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 3 в комбинации с BI2536.

[00188] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту

10 терапевтически эффективного количества соединения 3 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором BRD4. В одном варианте осуществления в данном документе

15 предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 3 в комбинации с JQ1.

[00189] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту

20 терапевтически эффективного количества соединения 3 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором BET. В одном варианте осуществления в данном документе

25 предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 3 в комбинации с соединением А.

[00190] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту

30 терапевтически эффективного количества соединения 3 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором NEK2. В одном варианте осуществления в данном документе

предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 3 в комбинации с JH295. В одном варианте осуществления в данном документе

предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 3 в комбинации с гас-ССТ 250863.

[00191] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 4 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором PLK1. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 4 или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидрохлоридной соли соединения 4) в комбинации с BI2536.

[00192] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 4 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором BRD4. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 4 или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидрохлоридной соли соединения 4) в комбинации с JQ1.

[00193] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 4 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором BET. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 4 или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидрохлоридной соли соединения 4) в комбинации с соединением А.

- [00194]** В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 4 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором NEK2. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 4 или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидрохлоридной соли соединения 4) в комбинации с JH295. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 4 или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидрохлоридной соли соединения 4) в комбинации с гас-ССТ 250863.
- [00195]** В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 5 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором PLK1. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 5 или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидрохлоридной соли соединения 5) в комбинации с BI2536.
- [00196]** В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 5 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором BRD4. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 5 или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидрохлоридной соли соединения 5) в комбинации с JQ1.

[00197] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 5 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором ВЕТ. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 5 или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидрохлоридной соли соединения 5) в комбинации с соединением А.

[00198] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 5 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором НЕК2. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 5 или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидрохлоридной соли соединения 5) в комбинации с JH295. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 5 или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидрохлоридной соли соединения 5) в комбинации с гас-ССТ 250863.

[00199] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 6 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором PLK1. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 6 или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидробромидной соли соединения 6) в комбинации с BI2536.

[00200] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения б или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором BRD4. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения б или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидробромидной соли соединения б) в комбинации с JQ1.

[00201] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения б или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором BET. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения б или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидробромидной соли соединения б) в комбинации с соединением А.

[00202] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения б или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором NEK2. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения б или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидробромидной соли соединения б) в комбинации с JH295. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения б или его фармацевтически приемлемой соли (например, гидробромидной соли соединения б) в комбинации с гас-ССТ 250863.

- [00203]** В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 7 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором PLK1. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 7 в комбинации с BI2536.
- 5
- [00204]** В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 7 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором BRD4. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 7 в комбинации с JQ1.
- 10
- 15
- [00205]** В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 7 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором BET. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 7 в комбинации с соединением А.
- 20
- 25
- [00206]** В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения рака, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 7 или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации с ингибитором NEK2. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который
- 30

5 включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 7 в комбинации с JH295. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения множественной миеломы, который включает введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения 7 в комбинации с гас-ССТ 250863.

[00207] В данном документе также предусмотрены способы осуществления лечения пациентов, которые ранее подвергались лечению множественной миеломы, но не отвечают на стандартные средства терапии, а также пациентов, которые ранее не подвергались лечению. Кроме того, охватываются способы осуществления лечения пациентов, которые подвергались хирургическому вмешательству в попытке лечения множественной миеломы, а также пациентов, которые не подвергались хирургическому вмешательству. Также в данном документе предусмотрены способы осуществления лечения пациентов, которые ранее подвергались трансплантационной терапии, а также пациентов, которые не подвергались трансплантационной терапии.

[00208] Способы, предусмотренные в данном документе, включают лечение множественной миеломы, которая является рецидивирующей, рефрактерной или устойчивой. Способы, предусмотренные в данном документе, включают предупреждение множественной миеломы, которая является рецидивирующей, рефрактерной или устойчивой. Способы, предусмотренные в данном документе, включают контроль множественной миеломы, которая является рецидивирующей, рефрактерной или устойчивой. В некоторых таких вариантах осуществления миелома представляет собой первичную, вторичную, третичную, четырехкратно или пятикратно рецидивирующую множественную миелому. В одном варианте осуществления способы, предусмотренные в данном документе, способствуют уменьшению, поддержанию или устранению минимального остаточного заболевания (MRD). В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ повышения частоты и/или продолжительности негативного статуса MRD у пациентов с множественной миеломой, включающий введение терапевтически эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе. В одном варианте осуществления способы, предусмотренные в данном документе, охватывают осуществление лечения, предупреждение или контроль различных типов множественной миеломы, таких как моноклональная гаммапатия неопределенного

гене́за (MGUS), множественная миелома низкого риска, промежуточного риска и высокого риска, впервые диагностированная множественная миелома (в том числе впервые диагностированная множественная миелома низкого риска, промежуточного риска и высокого риска), удовлетворяющая и не удовлетворяющая критериям трансплантации множественная миелома, "тлеющая" (индолентная) множественная миелома (в том числе "тлеющая" множественная миелома низкого риска, промежуточного риска и высокого риска), активная множественная миелома, солитарная плазмоцитома, экстрамедуллярная плазмоцитома, лейкоз плазматических клеток, множественная миелома центральной нервной системы, миелома легких цепей, несекреторная миелома, миелома иммуноглобулина класса D и миелома иммуноглобулина класса E, путем введения терапевтически эффективного количества соединения, описанного в данном документе. В другом варианте осуществления способы, предусмотренные в данном документе, охватывают осуществление лечения, предупреждение или контроль множественной миеломы, характеризующейся генетическими аномалиями, такими как транслокации циклина D (например, $t(11;14)(q13;q32)$; $t(6;14)(p21;32)$; $t(12;14)(p13;q32)$; или $t(6;20)$); транслокации MMSET (например, $t(4;14)(p16;q32)$); транслокации MAF $t(14;16)(q32;q32)$; $t(20;22)$; $t(16;22)(q11;q13)$; или $t(14;20)(q32;q11)$); или другие хромосомные факторы (например, делеция 17p13 или хромосомы 13; $del(17/17p)$, отличное от гипердиплоидии состояние и приобретение (1q)), путем введения терапевтически эффективного количества соединения, описанного в данном документе. В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется в соответствии с Международной системой стадирования множественной миеломы (ISS). В одном варианте осуществления множественная миелома представляет собой множественную миелому стадии I, характеризующуюся с помощью ISS (например, сывороточный $\beta 2$ -микроглобулин $< 3,5$ мг/л и сывороточный альбумин $\geq 3,5$ г/дл). В одном варианте осуществления множественная миелома представляет собой множественную миелому стадии III, характеризующуюся с помощью ISS (например, сывороточный $\beta 2$ -микроглобулин $> 5,4$ мг/л). В одном варианте осуществления множественная миелома представляет собой множественную миелому стадии II, характеризующуюся с помощью ISS (например, стадии, отличной от стадии I или III).

[00209] В некоторых вариантах осуществления способы включают введение терапевтически эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном

документе, в качестве индукционной терапии. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение терапевтически эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, в качестве консолидирующей терапии. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение терапевтически эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, в качестве поддерживающей терапии.

5 [00210] В одном конкретном варианте осуществления способов, описанных в данном документе, множественная миелома представляет собой лейкоз плазматических клеток.

[00211] В одном варианте осуществления способов, описанных в данном документе, множественная миелома представляет собой множественную миелому высокого риска. В некоторых таких вариантах осуществления множественная миелома высокого риска является рецидивирующей или рефрактерной. В одном варианте осуществления множественная миелома высокого риска представляет собой множественную миелому, которая рецидивирует в течение 12 месяцев после первого лечения. В еще одном варианте осуществления множественная миелома высокого риска представляет собой множественную миелому, которая характеризуется генетическими аномалиями, например, одной или несколькими из del(17/17p) и t(14;16)(q32;q32). В некоторых таких вариантах осуществления множественная миелома высокого риска является рецидивирующей или рефрактерной в отношении одного, двух или трех предшествующих средств лечения.

[00212] В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется мутацией p53. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию Q331. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию R273H. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию K132. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию K132N. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию R337. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию R337L. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию W146. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию S261. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию S261T. В одном варианте осуществления мутация p53

представляет собой мутацию E286. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию E286K. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию R175. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию R175H. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию E258. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию E258K. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию A161. В одном варианте осуществления мутация p53 представляет собой мутацию A161T.

[00213] В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется гомозиготной делецией p53. В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется гомозиготной делецией p53 дикого типа.

[00214] В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется p53 дикого типа.

[00215] В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется активацией одного или нескольких онкогенных факторов. В одном варианте осуществления один или несколько онкогенных факторов выбраны из группы, состоящей из C-MAF, MAFB, FGFR3, MMset, циклина D1 и циклина D. В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется активацией C-MAF. В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется активацией MAFB. В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется активацией FGFR3 и MMset. В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется активацией C-MAF, FGFR3 и MMset. В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется активацией циклина D1. В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется активацией MAFB и циклина D1. В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется активацией циклина D.

[00216] В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется одной или несколькими хромосомными транслокациями. В одном варианте осуществления хромосомная транслокация представляет собой t(14;16). В одном варианте осуществления хромосомная транслокация представляет собой t(14;20). В одном варианте осуществления хромосомная транслокация представляет собой t(4;14). В одном варианте осуществления хромосомные транслокации представляют собой t(4;14) и t(14;16). В одном варианте осуществления хромосомная транслокация представляет собой t(11;14). В одном варианте осуществления хромосомная транслокация представляет собой t(6;20). В одном варианте осуществления

хромосомная транслокация представляет собой t(20;22). В одном варианте хромосомные транслокации представляют собой t(6;20) и t(20;22). В одном варианте осуществления хромосомная транслокация представляет собой t(16;22). В одном варианте хромосомные транслокации представляют собой t(14;16) и t(16;22). В одном варианте хромосомные транслокации представляют собой t(14;20) и t(11;14).

5 [00217] В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется мутацией p53 Q331, активацией C-MAF и хромосомной транслокацией в t(14;16). В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется гомозиготной делецией p53, активацией C-MAF и хромосомной транслокацией в t(14;16). В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется мутацией p53 K132N, активацией MAFB и хромосомной транслокацией в t(14;20). В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется p53 дикого типа, активацией FGFR3 и MMset и хромосомной транслокацией в t(4;14). В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется p53 дикого типа, активацией C-MAF и хромосомной транслокацией в t(14;16). В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется гомозиготной делецией p53, активацией FGFR3, MMset и C-MAF и хромосомными транслокациями в t(4;14) и t(14;16). В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется гомозиготной делецией p53, активацией циклина D1 и хромосомной транслокацией в t(11;14). В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется мутацией p53 R337L, активацией циклина D1 и хромосомной транслокацией в t(11;14). В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется мутацией p53 W146, активацией FGFR3 и MMset и хромосомной транслокацией в t(4;14). В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется мутацией p53 S261T, активацией MAFB и хромосомными транслокациями в t(6;20) и t(20;22). В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется мутацией p53 E286K, активацией FGFR3 и MMset и хромосомной транслокацией в t(4;14). В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется мутацией p53 R175H, активацией FGFR3 и MMset и хромосомной транслокацией в t(4;14). В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется мутацией p53 E258K, активацией C-MAF и хромосомными транслокациями в t(14;16) и t(16;22). В одном варианте осуществления множественная миелома характеризуется p53 дикого типа, активацией MAFB и циклина D1 и хромосомными транслокациями в t(14;20) и t(11;14). В одном варианте

осуществления множественная миелома характеризуется мутацией p53 A161T, активацией циклина D и хромосомной транслокацией в t(11;14).

[00218] В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, множественная миелома представляет собой впервые диагностированную множественную миелому, удовлетворяющую критериям трансплантации. В другом варианте осуществления множественная миелома представляет собой впервые диагностированную множественную миелому, не удовлетворяющую критериям трансплантации.

[00219] В еще других вариантах осуществления множественная миелома характеризуется ранним прогрессированием (например, через менее 12 месяцев) после исходного лечения. Во все еще других вариантах осуществления множественная миелома характеризуется ранним прогрессированием (например, через менее 12 месяцев) после трансплантации аутологичных стволовых клеток. В другом варианте осуществления множественная миелома является рефрактерной в отношении леналидомида. В другом варианте осуществления множественная миелома является рефрактерной в отношении помалидомида. В некоторых таких вариантах осуществления предполагается, что множественная миелома является рефрактерной в отношении помалидомида (например, посредством молекулярной характеристики). В другом варианте осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной в отношении 3 или более средств лечения и подвергалась воздействию ингибитора протеасом (например, бортезомиба, карфилзомиба, иксазомиба, опрозомиба или маризомиба) и иммуномодулирующего соединения (например, талидомида, леналидомида, помалидомида, ибердомида или авадомида), или является дважды рефрактерной в отношении ингибитора протеасом и иммуномодулирующего соединения. Во все еще других вариантах осуществления множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной в отношении 3 или более предшествующих средств терапии, в том числе, например, моноклонального антитела к CD38 (mAb к CD38, например, даратумумаба или изатуксимаба), ингибитора протеасом (например, бортезомиба, карфилзомиба, иксазомиба или маризомиба) и иммуномодулирующего соединения (например, талидомида, леналидомида, помалидомида, ибердомида или авадомида) или является дважды рефрактерной в отношении ингибитора протеасом или иммуномодулирующего соединения и mAb к CD38. Во все еще других вариантах осуществления множественная миелома является трижды рефрактерной, например, множественная

миелома является рефрактерной в отношении ингибитора протеасом (например, бортезомиба, карфилзомиба, иксазомиба, опрозомеиба или маризомиба), иммуномодулирующего соединения (например, талидомида, леналидомида, помалидомида, ибердомида или авадомеида) и одного другого активного средства, как описано в данном документе.

[00220] В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы осуществления лечения, предупреждения и/или контроля множественной миеломы, в том числе рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломы у пациентов с нарушением функции почек или ее симптомом, включающие введение терапевтически эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, пациенту, имеющему рецидивирующую/рефрактерную множественную миелому с нарушением функции почек.

[00221] В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы осуществления лечения, предупреждения и/или контроля множественной миеломы, в том числе рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломы у ослабленных пациентов или с симптомом ослабленности, включающие введение терапевтически эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, ослабленному пациенту, имеющему множественную миелому. В некоторых таких вариантах осуществления ослабленный пациент характеризуется отсутствием критериев, удовлетворяющим индукционной терапии, или непереносимостью лечения с помощью дексаметазона. В некоторых таких вариантах осуществления ослабленный пациент является лицом пожилого возраста, например, старше возраста 65 лет.

[00222] В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы осуществления лечения, предупреждения или контроля множественной миеломы, включающие введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, при этом множественная миелома представляет собой множественную миелому, рецидивирующую/рефрактерную в отношении четвертой линии.

[00223] В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы осуществления лечения, предупреждения или контроля

множественной миеломы, включающие введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, в качестве индукционной терапии, при этом множественная миелома представляет собой
5 впервые диагностированную множественную миелому, удовлетворяющую критериям трансплантации.

[00224] В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы осуществления лечения, предупреждения или контроля множественной миеломы, включающие введение пациенту терапевтически
10 эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, в качестве поддерживающей терапии после другой терапии или трансплантации, при этом множественная миелома представляет собой впервые диагностированную
множественную миелому, удовлетворяющую критериям трансплантации, до другой
15 терапии или трансплантации.

[00225] В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы осуществления лечения, предупреждения или контроля множественной миеломы, включающие введение пациенту терапевтически
20 эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, в качестве поддерживающей терапии после другой терапии или трансплантации. В некоторых вариантах осуществления множественная миелома представляет собой
впервые диагностированную множественную миелому, удовлетворяющую критериям трансплантации, до другой терапии и/или трансплантации. В некоторых вариантах
25 осуществления другая терапия перед трансплантацией представляет собой лечение с помощью химиотерапии или соединения, предусмотренного в данном документе.

[00226] В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы осуществления лечения, предупреждения или контроля множественной миеломы, включающие введение пациенту терапевтически
30 эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, при этом множественная миелома представляет собой множественную миелому высокого риска, которая является рецидивирующей или рефрактерной в отношении одного, двух или трех предыдущих средств лечения.

[00227] В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы осуществления лечения, предупреждения или контроля множественной миеломы, включающие введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, при этом множественная миелома представляет собой впервые диагностированную множественную миелому, не удовлетворяющую критериям трансплантации.

[00228] В определенных вариантах осуществления пациент, подлежащий лечению с помощью одного из способов, предусмотренных в данном документе, не подвергался лечению с помощью терапии множественной миеломы до введения соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе. В определенных вариантах осуществления пациент, подлежащий лечению с помощью одного из способов, предусмотренных в данном документе, подвергался лечению с помощью терапии множественной миеломы до введения соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе. В определенных вариантах осуществления у пациента, подлежащего лечению с помощью одного из способов, предусмотренных в данном документе, развилась устойчивость к лекарственным средствам в отношении терапии множественной миеломы. В некоторых таких вариантах осуществления у пациента развилась устойчивость к одному, двум или трем средствам терапии для лечения множественной миеломы, при этом средства терапии выбраны из моноклонального антитела к CD38 (mAb к CD38, например, даратумумаба или изатуксимаба), ингибитора протеасом (например, бортезомиба, карфилзомиба, иксазомиба или маризомиба) и иммуномодулирующего соединения (например, талидомида, леналидомида, помалидомида, ибердомида или авадомида).

[00229] Способы, предусмотренные в данном документе, охватывают осуществление лечения пациента независимо от возраста пациента. В некоторых вариантах осуществления возраст субъекта составляет 18 лет или старше. В других вариантах осуществления возраст субъекта составляет более 18, 25, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 или 70 лет. В других вариантах осуществления возраст субъекта составляет менее 65 лет. В других вариантах осуществления возраст субъекта составляет более 65 лет. В одном варианте осуществления субъект представляет собой субъекта пожилого возраста с множественной миеломой, такого как субъект в возрасте старше

65 лет. В одном варианте осуществления субъект представляет собой субъекта пожилого возраста с множественной миеломой, такого как субъект в возрасте старше 75 лет.

Е. Введение доз вторых активных средств

5 **[00230]** В одном варианте осуществления конкретное количество (дозировка) второго активного средства, предусмотренного в данном документе, при применении в способах, предусмотренных в данном документе, определяется такими факторами, как применяемое конкретное средство, тип множественной миеломы, которая подвергается лечению или контролю, тяжесть и стадия заболевания, количество соединения, 10 предусмотренного в данном документе, и любые необязательные дополнительные активные средства, одновременно вводимые пациенту.

[00231] В одном варианте осуществления дозировка второго активного средства, предусмотренного в данном документе, при применении в способах, предусмотренных в данном документе, определяют на основании вкладыша серийной упаковки 15 лекарственного препарата (например, этикетки), одобренного FDA или аналогичным регуляторным органом страны, отличной от США, для указанного активного средства. В одном варианте осуществления дозировка второго активного средства, предусмотренная в данном документе, применяемая в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой дозировку, одобренную FDA или аналогичным 20 регуляторным органом страны, отличной от США, для указанного активного средства. В одном варианте осуществления дозировка второго активного средства, предусмотренного в данном документе, применяемая в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой дозировку, применяемую в клиническом испытании с участием людей указанного активного средства. В одном варианте 25 осуществления дозировка второго активного средства, предусмотренного в данном документе, применяемая в способах, предусмотренных в данном документе, ниже, чем дозировка, одобренная FDA или аналогичным регуляторным органом страны, отличной от США, для указанного активного средства, или дозировка, применяемая в клиническом испытании с участием людей указанного активного средства, в 30 зависимости от, например, синергических эффектов между вторым активным средством и соединением, предусмотренным в данном документе.

[00232] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор ВТК. В одном варианте осуществления ингибитор ВТК (например,

ибрутиниб) вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 140 мг до приблизительно 700 мг, от приблизительно 280 мг до приблизительно 560 мг или от приблизительно 420 мг до приблизительно 560 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ВТК (например, ибрутиниб) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 700 мг, не более приблизительно 560 мг, не более приблизительно 420 мг, не более приблизительно 280 мг или не более приблизительно 140 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ВТК (например, ибрутиниб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 560 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ВТК (например, ибрутиниб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 420 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ВТК (например, ибрутиниб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 280 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ВТК (например, ибрутиниб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 140 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ВТК (например, ибрутиниб) вводят перорально.

[00233] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор mTOR. В одном варианте осуществления ингибитор mTOR (например, эверолимус) вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 1 мг до приблизительно 20 мг, от приблизительно 2,5 мг до приблизительно 15 мг или от приблизительно 5 мг до приблизительно 10 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор mTOR (например, эверолимус) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 20 мг, не более приблизительно 15 мг, не более приблизительно 10 мг, не более приблизительно 5 мг или не более приблизительно 2,5 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор mTOR (например, эверолимус) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 10 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор mTOR (например, эверолимус) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 5 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор mTOR (например, эверолимус) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 2,5 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор mTOR (например, эверолимус) вводят перорально.

[00234] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор P1M. В одном варианте осуществления ингибитор P1M (например, LGH-

447) вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 30 мг до приблизительно 1000 мг, от приблизительно 70 мг до приблизительно 700 мг, от приблизительно 150 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 200 мг до приблизительно 350 мг или от приблизительно 250 мг до приблизительно 300 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор PIM (например, LGH-447) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 700 мг, не более приблизительно 500 мг, не более приблизительно 350 мг, не более приблизительно 300 мг, не более приблизительно 250 мг, не более приблизительно 200 мг, не более приблизительно 150 мг или не более приблизительно 70 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор PIM (например, LGH-447) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 500 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор PIM (например, LGH-447) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 350 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор PIM (например, LGH-447) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 300 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор PIM (например, LGH-447) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 250 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор PIM (например, LGH-447) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 200 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор PIM (например, LGH-447) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 150 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор PIM (например, LGH-447) вводят перорально.

[00235] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор IGF-1R. В одном варианте осуществления ингибитор IGF-1R (например, линситиниб) вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 100 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 150 мг до приблизительно 450 мг, от приблизительно 200 мг до приблизительно 400 мг или от приблизительно 250 мг до приблизительно 300 мг в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор IGF-1R (например, линситиниб) вводят в дозировке в диапазоне, составляющем от приблизительно 50 мг до приблизительно 250 мг, от приблизительно 75 мг до приблизительно 225 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 200 мг или от приблизительно 125 мг до приблизительно 150 мг два раза в сутки (BID). В одном варианте осуществления ингибитор IGF-1R (например, линситиниб) вводят в

дозировке, составляющей не более приблизительно 450 мг, не более приблизительно 400 мг, не более приблизительно 300 мг, не более приблизительно 250 мг, не более приблизительно 200 мг или не более приблизительно 150 мг в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор IGF-1R (например, линситиниб) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 450 мг, не более приблизительно 400 мг, не более приблизительно 300 мг, не более приблизительно 250 мг, не более приблизительно 200 мг или не более приблизительно 150 мг в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор IGF-1R (например, линситиниб) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 225 мг, не более приблизительно 200 мг, не более приблизительно 150 мг, не более приблизительно 125 мг, не более приблизительно 100 мг или не более приблизительно 75 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор IGF-1R (например, линситиниб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 450 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 200 мг или приблизительно 150 мг в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор IGF-1R (например, линситиниб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 225 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 125 мг, приблизительно 100 мг или приблизительно 75 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор IGF-1R (например, линситиниб) вводят в сутки 1-3 каждые 7 дней. В одном варианте осуществления ингибитор IGF-1R (например, линситиниб) вводят перорально.

[00236] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор МЕК. В одном варианте осуществления ингибитор МЕК (например, траметиниб или траметиниба диметилсульфоксид) вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 0,25 мг до приблизительно 3 мг, от приблизительно 0,5 мг до приблизительно 2 мг или от приблизительно 1 мг до приблизительно 1,5 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор МЕК (например, траметиниб или траметиниба диметилсульфоксид) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 2 мг, не более приблизительно 1,5 мг, не более приблизительно 1 мг или не более приблизительно 0,5 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор МЕК (например, траметиниб или траметиниба диметилсульфоксид) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 2 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор МЕК (например, траметиниб или траметиниба

диметилсульфоксид) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 1,5 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор МЕК (например, траметиниб или траметиниба диметилсульфоксид) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 1 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор

5 МЕК (например, траметиниб или траметиниба диметилсульфоксид) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 0,5 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор МЕК (например, траметиниб или траметиниба диметилсульфоксид) вводят перорально.

[00237] В одном варианте осуществления второе активное средство,

10 применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор ХРО1. В одном варианте осуществления ингибитор ХРО1 (например, селинексор) вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 30 мг до приблизительно 200 мг, от приблизительно 45 мг до приблизительно 150 мг два раза в неделю или от приблизительно 60 мг до приблизительно 100 мг два раза в неделю. В

15 одном варианте осуществления ингибитор ХРО1 (например, селинексор) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 100 мг, не более приблизительно 80 мг, не более приблизительно 60 мг или не более приблизительно 40 мг два раза в неделю. В одном варианте осуществления ингибитор ХРО1 (например, селинексор) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 20 мг, приблизительно 30 мг,

20 приблизительно 40 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 60 мг, приблизительно 70 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 90 мг или приблизительно 100 мг два раза в неделю. В одном варианте осуществления дозировка составляет приблизительно 40 мг два раза в неделю. В одном варианте осуществления дозировка составляет приблизительно 60 мг два раза в неделю. В одном варианте осуществления дозировка составляет приблизительно 80 мг два раза в неделю. В одном варианте осуществления дозировка составляет приблизительно 100 мг два раза в неделю. В одном варианте осуществления ингибитор ХРО1 (например, селинексор) вводят перорально.

[00238] В одном варианте осуществления второе активное средство,

30 применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор DOT1L. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, SGC0946) вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 10 мг до приблизительно 500 мг, от приблизительно 25 мг до приблизительно 400 мг, от приблизительно 50 мг до приблизительно 300 мг, от приблизительно 75 мг до приблизительно 200 мг или от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг в

сутки. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, SGC0946) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 500 мг, не более приблизительно 400 мг, не более приблизительно 300 мг, не более приблизительно 200 мг, не более приблизительно 150 мг, не более приблизительно 100 мг, не более приблизительно 75 мг, не более приблизительно 50 мг или не более приблизительно 25 мг в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, SGC0946) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 25 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 75 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 400 мг или приблизительно 500 мг. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, SGC0946) вводят в дозировке в диапазоне, составляющем от приблизительно 18 мг/м² до приблизительно 126 мг/м², от приблизительно 36 мг/м² до приблизительно 108 мг/м² или от приблизительно 54 мг/м² до приблизительно 90 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, SGC0946) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 126 мг/м², не более приблизительно 108 мг/м², не более приблизительно 90 мг/м², не более приблизительно 72 мг/м², не более приблизительно 54 мг/м², не более приблизительно 36 мг/м² или не более приблизительно 18 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, SGC0946) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 18 мг/м², приблизительно 36 мг/м², приблизительно 54 мг/м², приблизительно 72 мг/м², приблизительно 90 мг/м², приблизительно 108 мг/м² или приблизительно 126 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, SGC0946) вводят перорально. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, SGC0946) вводят внутривенно.

25 **[00239]** В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, пинометостат) вводят в дозировке в диапазоне, составляющем от приблизительно 18 мг/м² до приблизительно 108 мг/м², от приблизительно 36 мг/м² до приблизительно 90 мг/м² или от приблизительно 54 мг/м² до приблизительно 72 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, пинометостат) вводят в

30 дозировке, составляющей не более приблизительно 108 мг/м², не более приблизительно 90 мг/м², не более приблизительно 72 мг/м², не более приблизительно 54 мг/м², не более приблизительно 36 мг/м² или не более приблизительно 18 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, пинометостат) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 18 мг/м² в сутки. В одном варианте

осуществления ингибитор DOT1L (например, пинометостат) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 36 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, пинометостат) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 54 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, пинометостат) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 70 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, пинометостат) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 72 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, пинометостат) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 90 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, пинометостат) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 108 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор DOT1L (например, пинометостат) вводят внутривенно.

[00240] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор EZH2. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, таземетостат) вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 50 мг до приблизительно 1600 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 800 мг или от приблизительно 200 мг до приблизительно 400 мг два раза в сутки (BID). В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, таземетостат) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 800 мг, не более приблизительно 600 мг, не более приблизительно 400 мг, не более приблизительно 200 мг или не более приблизительно 100 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, таземетостат) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 800 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, таземетостат) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 600 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, таземетостат) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 400 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, таземетостат) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 200 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, таземетостат) вводят перорально.

[00241] В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, CPI-1205) вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 100 мг до приблизительно 3200 мг, от приблизительно 200 мг до приблизительно 1600 мг или от приблизительно 400 мг до приблизительно 800 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления

ингибитор EZH2 (например, CPI-1205) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 3200 мг, не более приблизительно 1600 мг, не более приблизительно 800 мг, не более приблизительно 400 мг, не более приблизительно 200 мг или не более приблизительно 100 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, CPI-1205) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 3200 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, CPI-1205) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 1600 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, CPI-1205) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 800 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, CPI-1205) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 400 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, CPI-1205) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 200 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, CPI-1205) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 100 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, CPI-1205) вводят в течение одного или нескольких 28-суточных циклов. В одном варианте осуществления ингибитор EZH2 (например, CPI-1205) вводят перорально.

[00242] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор JAK2. В одном варианте осуществления ингибитор JAK2 (например, федратиниб) вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 120 мг до приблизительно 680 мг, от приблизительно 240 мг до приблизительно 500 мг или от приблизительно 300 мг до приблизительно 400 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор JAK2 (например, федратиниб) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 680 мг, не более приблизительно 500 мг, не более приблизительно 400 мг, не более приблизительно 300 мг или не более приблизительно 240 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор JAK2 (например, федратиниб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 500 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор JAK2 (например, федратиниб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 400 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор JAK2 (например, федратиниб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 300 мг один раз в сутки.

[00243] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор PLK1. В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 (например, BI2536) вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 20 мг до

5 приблизительно 200 мг, от приблизительно 40 мг до приблизительно 100 мг или от приблизительно 50 мг до приблизительно 60 мг в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 (например, BI2536) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 200 мг, не более приблизительно 100 мг, не более

10 приблизительно 60 мг, не более приблизительно 50 мг, не более приблизительно 40 мг или не более приблизительно 20 мг в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 (например, BI2536) вводят в дозировке, составляющей

приблизительно 200 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 60 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 40 мг или приблизительно 20 мг в сутки. В

15 одном варианте осуществления ингибитор PLK1 (например, BI2536) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 200 мг один раз в течение каждого 21-суточного цикла. В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 (например, BI2536) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 100 мг в сутки в сутки в 1

и 8 21-суточного цикла. В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 (например, BI2536) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 50 мг в сутки в сутки в 1-3

20 21-суточного цикла. В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 (например, BI2536) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 60 мг в сутки в сутки в 1-3 21-суточного цикла. В одном варианте осуществления ингибитор PLK1 (например, BI2536) вводят внутривенно.

[00244] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор AURKB. В одном варианте осуществления ингибитор AURKB (например, AZD1152) вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 50 мг до

25 приблизительно 200 мг, от приблизительно 75 мг до приблизительно 150 мг или от приблизительно 100 мг до приблизительно 110 мг в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор AURKB (например, AZD1152) вводят в дозировке,

30 составляющей не более приблизительно 200 мг, не более приблизительно 150 мг, не более приблизительно 110 мг, не более приблизительно 100 мг, не более

приблизительно 75 мг или не более приблизительно 50 мг в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор AURKB (например, AZD1152) вводят в дозировке,

составляющей приблизительно 200 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 110 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 75 мг или приблизительно 50 мг в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор AURKB (например, AZD1152) вводят в дозировке, описанной в данном документе, в сутки 1, 2, 15 и 16 28-суточного цикла. В

5 одном варианте осуществления ингибитор AURKB (например, AZD1152) вводят внутривенно. В одном варианте осуществления ингибитор AURKB (например, AZD1152) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 150 мг, в виде 48-часовой непрерывной инфузии каждые 14 суток 28-суточного цикла. В одном варианте осуществления ингибитор AURKB (например, AZD1152) вводят в дозировке,

10 составляющей приблизительно 220 мг, в виде 2 x 2-часовых инфузий каждые 14 суток 28-суточного цикла (например, 110 мг/сутки в сутки 1, 2, 15 и 16). В одном варианте осуществления ингибитор AURKB (например, AZD1152) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 200 мг, в виде 2-часовой инфузии каждые 7 суток. В одном варианте осуществления ингибитор AURKB (например, AZD1152) вводят в

15 дозировке, составляющей приблизительно 450 мг, в виде 2-часовой инфузии каждые 14 суток.

[00245] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор BIRC5. В одном варианте осуществления ингибитор BIRC5 (например,

20 YM155) вводят в дозировке в диапазоне, составляющем от приблизительно 2 мг/м² до приблизительно 15 мг/м² или от приблизительно 4 мг/м² до приблизительно 10 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор BIRC5 (например, YM155) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 15 мг/м², не более приблизительно 10 мг/м², не более приблизительно 4,8 мг/м², не более приблизительно 4 мг/м² или не

25 более приблизительно 2 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор BIRC5 (например, YM155) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 15 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор BIRC5 (например, YM155) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 10 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор BIRC5 (например, YM155) вводят в дозировке,

30 составляющей приблизительно 4,8 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор BIRC5 (например, YM155) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 4 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор BIRC5 (например, YM155) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 2 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор BIRC5 (например, YM155) вводят

внутривенно. В одном варианте осуществления ингибитор BIRC5 (например, YM155) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 4,8 мг/м²/сутки с помощью приблизительно 168-часовой непрерывной IV инфузии каждые 3 недели. В одном варианте осуществления ингибитор BIRC5 (например, YM155) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 5 мг/м²/сутки с помощью приблизительно 168-часовой непрерывной IV инфузии каждые 3 недели. В одном варианте осуществления ингибитор BIRC5 (например, YM155) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 10 мг/м²/сутки с помощью приблизительно 72-часовой непрерывной IV инфузии каждые 3 недели.

5 [00246] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор BET. В одном варианте осуществления ингибитор BET (например, бирабресиб) вводят в дозировке в диапазоне, составляющем от приблизительно 10 мг до приблизительно 160 мг, от приблизительно 20 мг до приблизительно 120 мг или от
15 приблизительно 40 мг до приблизительно 80 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор BET (например, бирабресиб) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 160 мг, не более приблизительно 120 мг, не более приблизительно 80 мг, не более приблизительно 40 мг, не более приблизительно 20 мг или не более приблизительно 10 мг один раз в сутки. В одном варианте
20 осуществления ингибитор BET (например, бирабресиб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 160 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор BET (например, бирабресиб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 120 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор BET (например, бирабресиб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 80 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор BET (например, бирабресиб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 40 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор BET (например, бирабресиб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 20 мг один раз в сутки. В одном варианте
25 осуществления ингибитор BET (например, бирабресиб) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 10 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор BET (например, бирабресиб) вводят в дозировке, описанной в данном документе, в сутки 1-7 21-суточного цикла. В одном варианте осуществления ингибитор BET (например, бирабресиб) вводят в дозировке, описанной в данном

документе, в сутки 1-14 21-суточного цикла. В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ (например, бирабресиб) вводят в дозировке, описанной в данном документе, в сутки 1-21 21-суточного цикла. В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ (например, бирабресиб) вводят в дозировке, описанной в данном документе, в сутки 1-5 7-суточного цикла. В одном варианте осуществления ингибитор ВЕТ (например, бирабресиб) вводят перорально.

[00247] В одном варианте осуществления второе активное средство, применяемое в способах, предусмотренных в данном документе, представляет собой ингибитор ДНК-метилтрансферазы. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке в диапазоне, составляющем от приблизительно 25 мг/м² до приблизительно 150 мг/м², от приблизительно 50 мг/м² до приблизительно 125 мг/м² или от приблизительно 75 мг/м² до приблизительно 100 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 150 мг/м², не более приблизительно 125 мг/м², не более приблизительно 100 мг/м², не более приблизительно 75 мг/м², не более приблизительно 50 мг/м² или не более приблизительно 25 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 150 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 125 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 100 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 75 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 50 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 25 мг/м² в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят подкожно. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят внутривенно.

[00248] В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей от приблизительно 100 мг

до приблизительно 500 мг или от приблизительно 200 мг до приблизительно 400 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 500 мг, не более приблизительно 400 мг, не более приблизительно 300 мг, не более

5 приблизительно 200 мг или не более приблизительно 100 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 500 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 400 мг один раз в сутки. В одном

10 варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 300 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 200 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин)

15 вводят в дозировке, составляющей приблизительно 100 мг один раз в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке в диапазоне, составляющем от приблизительно 100 мг до приблизительно 300 мг или от приблизительно 150 мг до приблизительно 250 мг два

20 раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей не более приблизительно 300 мг, не более приблизительно 250 мг, не более приблизительно 200 мг, не более приблизительно 150 мг или не более приблизительно 100 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 300 мг два раза в сутки. В одном

25 варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 250 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 200 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин)

30 вводят в дозировке, составляющей приблизительно 150 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, составляющей приблизительно 100 мг два раза в сутки. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, описанной в данном документе, в сутки 1-14 28-суточного цикла.

В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят в дозировке, описанной в данном документе, в сутки 1-21 28-суточного цикла. В одном варианте осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы (например, азацитидин) вводят перорально.

5 **Г. Комбинированная терапия с помощью дополнительного активного средства**

[00249] В одном варианте осуществления способы, предусмотренные в данном документе (комбинированное применение соединения, предусмотренного в данном документе, и второго активного средства, предусмотренного в данном документе),
10 дополнительно включают введение пациенту дополнительного активного средства (третьего средства). В одном варианте осуществления третье средство представляет собой стероид.

[00250] Комбинированное применение соединения, предусмотренного в данном документе, и второго активного средства, предусмотренного в данном документе,
15 также можно дополнительно комбинировать или применять в сочетании со (например, до, во время или после) средством общепринятой терапии, в том числе без ограничения хирургическим вмешательством, биологической терапией (в том числе иммунотерапией, например, с помощью ингибиторов контрольных точек), лучевой терапией, химиотерапией, трансплантацией стволовых клеток, клеточной терапией или
20 другой терапией без применения лекарственных средств, применяемой в настоящее время для лечения, предупреждения или контроля рака (например, множественной миеломы). Комбинированное применение соединения, предусмотренного в данном документе, второго активного средства, предусмотренного в данном документе, и средства общепринятой терапии может обеспечить уникальную схему лечения,
25 которая является неожиданно эффективной у определенных пациентов. Не ограничиваясь теорией, считается, что соединение, предусмотренное в данном документе, и второе активное средство, предусмотренное в данном документе, могут обеспечивать аддитивные или синергетические эффекты при одновременном применении со средством общепринятой терапии.

30 [00251] Как обсуждалось в другом разделе в данном документе, в данном документе охвачен способ уменьшения, осуществления лечения и/или предупреждения неблагоприятных или нежелательных эффектов, ассоциированных со средством общепринятой терапии, в том числе без ограничения хирургическим вмешательством, химиотерапией, лучевой терапией, биологической терапией и иммунотерапией.

Соединение, предусмотренное в данном документе, второе активное средство, предусмотренное в данном документе, и дополнительный активный ингредиент можно вводить пациенту до, во время или после возникновения неблагоприятного эффекта, ассоциированного со средством общепринятой терапии. В одном таком варианте

5 осуществления дополнительное активное средство представляет собой дексаметазон.

[00252] Комбинированное применение соединения, предусмотренного в данном документе, и второго активного средства, предусмотренного в данном документе, также можно дополнительно комбинировать или применять в комбинации с другими терапевтическими средствами, применимыми для лечения и/или предупреждения множественной миеломы, описанной в данном документе. В одном таком варианте осуществления дополнительное активное средство представляет собой дексаметазон.

[00253] В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен способ осуществления лечения, предупреждения или контроля множественной миеломы, включающий введение пациенту соединения, предусмотренного в данном документе, в комбинации со вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, дополнительно в комбинации с одним или несколькими дополнительными активными средствами, и необязательно дополнительно в комбинации с лучевой терапией, трансфузиями крови или хирургическим вмешательством.

[00254] Применяемый в данном документе термин "в комбинации" предусматривает применение более чем одного средства терапии (например, одного или нескольких профилактических и/или терапевтических средств). Однако применение термина "в комбинации" не ограничивает порядок, в котором средства терапии (например, профилактические и/или терапевтические средства) вводят пациенту с заболеванием или нарушением. Первое средство терапии (например, профилактическое или терапевтическое средство, такое как соединение 1, предусмотренное в данном документе) можно вводить до (например, за 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель до) введения субъекту второго средства терапии (например, второго активного средства, предусмотренного в данном документе), одновременно с его введением или после (например, через 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель после) его введения. Первое средство терапии и второе средство терапии независимо можно

вводить до (например, за 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель до) введения субъекту третьего средства терапии (например, дополнительного профилактического или терапевтического средства), одновременно с его введением или после (например, через 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель после) его введения. В данном документе также предполагается четырехкомпонентное средство терапии, как и пятикомпонентное средство терапии. В одном варианте осуществления третье средство терапии представляет собой дексаметазон.

[00255] Введение соединения, предусмотренного в данном документе, второго активного средства, предусмотренного в данном документе, и одного или нескольких дополнительных активных средств пациенту может происходить одновременно или последовательно одним и тем же или разными путями введения. Пригодность конкретного пути введения, применяемого для конкретного активного средства, будет зависеть от самого активного средства (например, можно ли его вводить перорально без разложения перед попаданием в кровоток).

[00256] Путь введения соединения, предусмотренного в данном документе, не зависит от способа введения второго активного средства, предусмотренного в данном документе, а также от дополнительного средства терапии. В одном варианте осуществления соединение, предусмотренное в данном документе, вводят перорально. В другом варианте осуществления соединение, предусмотренное в данном документе, вводят внутривенно. В одном варианте осуществления второе активное средство, предусмотренное в данном документе, вводят перорально. В одном варианте осуществления второе активное средство, предусмотренное в данном документе, вводят внутривенно. Таким образом, в соответствии с этими вариантами осуществления соединения, предусмотренного в данном документе, вводят перорально или внутривенно, второе активное средство, предусмотренное в данном документе, вводят перорально или внутривенно, и дополнительное средство терапии можно вводить перорально, парентерально, внутрибрюшинно, внутривенно, внутриартериально, трансдермально, сублингвально, внутримышечно, ректально, трансбуккально, интраназально, с помощью липосом, посредством ингаляции, вагинально, внутриглазным способом, посредством местной доставки с помощью

катетера или стента, подкожно, с помощью доставки в жировую ткань, внутрисуставно, интратекально или в лекарственной форме медленного высвобождения. В одном варианте осуществления соединение, предусмотренное в данном документе, второе активное средство, предусмотренное в данном документе, и
5 дополнительное средство терапии вводят одним и тем же способом введения, перорально или с помощью IV. В другом варианте осуществления соединения, предусмотренное в данном документе, вводят одним способом введения, например, с помощью IV, тогда как второе активное средство, предусмотренное в данном документе, или дополнительное средство (средство для лечения множественной
10 миеломы) вводят другим способом введения, например, перорально.

[00257] В одном варианте осуществления дополнительное активное средство вводят внутривенно или подкожно один или два раза в сутки в количестве, составляющем от приблизительно 1 до приблизительно 1000 мг, от приблизительно 5 до приблизительно 500 мг, от приблизительно 10 до приблизительно 350 мг или от
15 приблизительно 50 до приблизительно 200 мг. Конкретное количество дополнительного активного средства будет зависеть от конкретного применяемого средства, типа множественной миеломы, подлежащей лечению или контролю, тяжести и стадии заболевания, количества соединения, предусмотренного в данном документе, количества второго активного средства, предусмотренного в данном документе, и
20 любых необязательных дополнительных активных средств, одновременно вводимых пациенту.

[00258] Один или несколько дополнительных активных ингредиентов или средств можно применять вместе с соединением, предусмотренным в данном документе, и вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, в
25 способах и композициях, предусмотренных в данном документе. Дополнительными активными средствами могут быть большие молекулы (например, белки), малые молекулы (например, синтетические неорганические, металлоорганические или органические молекулы) или средства клеточной терапии (например, клетки с CAR).

[00259] Примеры дополнительных активных средств, которые можно применять
30 в способах и композициях, описанных в данном документе, включают одно или несколько из мелфалана, винкристина, циклофосфида, этопозиды, доксорубицина, бендамустина, обинутузумаба, ингибитора протеасом (например, бортезомида, карфилзомида, иксазомида, опрозомиды или маризомида), ингибитора гистондеацетилазы (например, панобиностата, ACY241), ингибитора BET (например,

GSK525762A, OTX015, BMS-986158, TEN-010, CPI-0610, INCB54329, BAY1238097, FT-1101, ABBV-075, BI 894999, GS-5829, GSK1210151A (I-BET-151), CPI-203, RVX-208, XD46, MS436, PFI-1, RVX2135, ZEN3365, XD14, ARV-771, MZ-1, PLX5117, 4-[2-(циклопропилметокси)-5-(метансульфонил)фенил]-2-метилизохинолин-1(2H)-она, EP11313 и EP11336), ингибитора BCL2 (например, венетоклакса или навитоклакса), ингибитора MCL-1 (например, AZD5991, AMG176, MIK665, S64315 или S63845), ингибитора LSD-1 (например, ORY-1001, ORY-2001, INCB-59872, IMG-7289, TAK-418, GSK-2879552, 4-[2-(4-аминопиперидин-1-ил)-5-(3-фтор-4-метоксифенил)-1-метил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-ил]-2-фторбензонитрил или их соли), кортикостероидов (например, преднизолона), дексаметазона; антитела (например, антитела к CS1, такое как элотузумаб; антитела к CD38, такое как даратумумаб или изатуксимаб; или антитела к BCMA, или конъюгат антитела, такой как GSK2857916 или BI 836909), ингибитора контрольных точек (как описано в данном документе), или клеток с CAR (как описано в данном документе).

15 **[00260]** В одном варианте осуществления дополнительное активное средство, применяемое вместе с соединением, предусмотренным в данном документе, и вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, в способах и композициях, описанных в данном документе, представляет собой дексаметазон.

[00261] В некоторых вариантах осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 4 мг, в сутки 1 и 8 21-суточного цикла. В некоторых других вариантах осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 4 мг, в сутки 1, 4, 8 и 11 21-суточного цикла. В некоторых вариантах осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 4 мг, в сутки 1, 8 и 15 28-суточного цикла. В некоторых других вариантах осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 4 мг, в сутки 1, 4, 8, 11, 15 и 18 28-суточного цикла. В некоторых вариантах осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 4 мг, в сутки 1, 8, 15 и 22 28-суточного цикла. В одном таком варианте осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 4 мг, в сутки 1, 10, 15 и 22 цикла. В некоторых вариантах осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 4 мг, в сутки 1, 3, 15 и 17 28-суточного цикла. В одном таком варианте осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 4 мг, в сутки 1, 3, 14 и 17 цикла.

[00262] В некоторых других вариантах осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 8 мг, в сутки 1 и 8 21-суточного цикла. В некоторых других вариантах осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 8 мг, в сутки 1, 4,

28-суточного цикла. В одном таком варианте осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 20 мг, в сутки 1, 3, 14 и 17 цикла 1.

[00265] В некоторых вариантах осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 40 мг, в сутки 1 и 8 21-суточного цикла. В некоторых других вариантах осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 40 мг в сутки 1, 4, 8 и 11 21-суточного цикла. В некоторых вариантах осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 40 мг, в сутки 1, 8 и 15 28-суточного цикла. В одном таком варианте осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 40 мг, в сутки 1, 10, 15 и 22 цикла 1. В некоторых других вариантах осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 40 мг, в сутки 1, 4, 8, 11, 15 и 18 28-суточного цикла. В других таких вариантах осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 40 мг, в сутки 1, 8, 15 и 22 28-суточного цикла. В других таких вариантах осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 40 мг, в сутки 1, 3, 15 и 17 28-суточного цикла. В одном таком варианте осуществления дексаметазон вводят в дозе, составляющей 40 мг в сутки 1, 3, 14 и 17 цикла 1.

[00266] В другом варианте осуществления дополнительное активное средство, применяемое вместе с соединением, предусмотренным в данном документе, и вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, в способах и композициях, описанных в данном документе, представляет собой бортезомиб. В еще одном варианте осуществления дополнительное активное средство, применяемое вместе с соединением, предусмотренным в данном документе, и вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, в способах и композициях, описанных в данном документе, представляет собой даратумумаб. В некоторых таких вариантах осуществления способы дополнительно включают введение дексаметазона. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение соединения, предусмотренного в данном документе, и второго активного средства, предусмотренного в данном документе, с ингибитором протеасом, как описано в данном документе, ингибитором CD38, как описано в данном документе, и кортикостероидом, как описано в данном документе.

[00267] В некоторых вариантах осуществления соединение, предусмотренное в данном документе, и второе активное средство, предусмотренное в данном документе, вводят в комбинации с ингибиторами контрольных точек. В одном варианте осуществления один ингибитор контрольных точек применяют в комбинации с соединением, предусмотренным в данном документе, и вторым активным средством,

предусмотренным в данном документе, в связи со способами, предусмотренными в данном документе. В другом варианте осуществления два ингибитора контрольных точек применяют в комбинации с соединением, предусмотренным в данном документе, и вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, в связи со способами, предусмотренными в данном документе. В еще одном варианте осуществления три или более ингибитора контрольных точек применяют в комбинации с соединением, предусмотренным в данном документе, и вторым активным средством, предусмотренным в данном документе, в связи со способами, предусмотренными в данном документе.

10 **[00268]** Применяемый в данном документе термин "ингибитор контрольных точек иммунного ответа" или "ингибитор контрольных точек" относится к молекулам, которые полностью или частично снижают, подавляют, или модулируют активность одного или нескольких белков контрольных точек, или препятствуют их активности. Без ограничения какой-либо конкретной теорией, белки контрольных точек
15 регулируют активацию или функцию Т-клеток. Известны многочисленные белки контрольных точек, такие как CTLA-4 и его лиганды CD80 и CD86, и PD-1 с его лигандами PD-L1 и PD-L2 (Pardoll, *Nature Reviews Cancer*, 2012, 12, 252-264). Эти белки, по-видимому, ответственны за костимулирующие или ингибирующие взаимодействия Т-клеточных ответов. Белки контрольных точек иммунного ответа, по-
20 видимому, регулируют и поддерживают аутоотолерантность и продолжительность и амплитуду физиологических иммунных ответов. Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа предусматривают антитела или являются производными антител.

[00269] В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор CTLA-4. В одном варианте осуществления ингибитор
25 CTLA-4 представляет собой антитело к CTLA-4. Примеры антител к CTLA-4 включают без ограничения антитела, описанные в патентах США №№ 5811097; 5811097; 5855887; 6051227; 6207157; 6682736; 6984720 и 7605238, все из которых включены в данный документ во всей своей полноте. В одном варианте осуществления антитело к CTLA-4 представляет собой тремелимуаб (также известный как
30 тицилимуаб или CP-675206). В другом варианте осуществления антитело к CTLA-4 представляет собой ипилимуаб (также известный как MDX-010 или MDX-101). Ипилимуаб представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело IgG, которое связывается с CTLA-4. Ипилимуаб продается под торговым наименованием Yervoy™.

[00270] В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор PD-1/PD-L1. Примеры ингибиторов PD-1/PD-L1 включают без ограничения ингибиторы, описанные в патентах США №№ 7488802; 7943743; 8008449; 8168757; 8217149 и публикациях патентных заявок согласно PCT №№ WO2003042402, WO2008156712, WO2010089411, WO2010036959, WO2011066342, WO2011159877, WO2011082400 и WO2011161699, все из которых включены в данный документ во всей своей полноте.

[00271] В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор PD-1. В одном варианте осуществления ингибитор PD-1 представляет собой антитело к PD-1. В одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой BGB-A317, ниволумаб (также известный как ONO-4538, BMS-936558 или MDX1106) или пембролизумаб (также известный как MK-3475, SCH 900475 или ламбролизумаб). В одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб. Ниволумаб представляет собой человеческое моноклональное антитело IgG4 к PD-1 и продается под торговым наименованием Opdivo™. В другом варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG4 и продается под торговым наименованием Keytruda™. В еще одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой CT-011, гуманизированное антитело. Антитело CT-011, введенное отдельно, не показало ответа при лечении рецидива острого миелоидного лейкоза (AML). В еще одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой AMP-224, слитый белок. В другом варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой BGB-A317. BGB-A317 представляет собой моноклональное антитело, в котором специально сконструирована способность связывать Fc-гамма-рецептор I, и которое характеризуется уникальным профилем связывания с PD-1 с высокой аффинностью и превосходной специфичностью к мишени.

[00272] В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор PD-L1. В одном варианте осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой антитело к PD-L1. В одном варианте осуществления антитело к PD-L1 представляет собой MEDI4736 (дурвалумаб). В другом варианте осуществления антитело к PD-L1 представляет собой BMS-936559 (также известное как MDX-1105-01). В еще одном варианте осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой атезолизумаб (также известный как MPDL3280A и Tecentriq®).

- [00273]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор PD-L2. В одном варианте осуществления ингибитор PD-L2 представляет собой антитело к PD-L2. В одном варианте осуществления антитело к PD-L2 представляет собой rHIgM12B7A.
- 5 **[00274]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор гена активации лимфоцитов 3 (LAG-3). В одном варианте осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой IMP321, растворимый слитый белок Ig (Brignone *et al.*, *J. Immunol.*, 2007, 179, 4202-4211). В другом варианте осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой BMS-986016.
- 10 **[00275]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор B7. В одном варианте осуществления ингибитор B7 представляет собой ингибитор B7-H3 или ингибитор B7-H4. В одном варианте осуществления ингибитор B7-H3 представляет собой MGA271, антитело к B7-H3 (Loo *et al.*, *Clin. Cancer Res.*, 2012, 3834).
- 15 **[00276]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор TIM3 (Т-клеточный иммуноглобулиновый и муциновый домен 3) (Fourcade *et al.*, *J. Exp. Med.*, 2010, 207, 2175-86; Sakuishi *et al.*, *J. Exp. Med.*, 2010, 207, 2187-94).
- [00277]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек
20 представляет собой агонист OX40 (CD134). В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой антитело к OX40. В одном варианте осуществления антитело к OX40 представляет собой антитело к OX-40. В другом варианте осуществления антитело к OX40 представляет собой MEDI6469.
- [00278]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек
25 представляет собой агонист GITR. В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой антитело к GITR. В одном варианте осуществления антитело к GITR представляет собой TRX518.
- [00279]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек
30 представляет собой агонист CD137. В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой антитело к CD137. В одном варианте осуществления антитело к CD137 представляет собой урелумаб. В другом варианте осуществления антитело к CD137 представляет собой PF-05082566.
- [00280]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек
представляет собой агонист CD40. В одном варианте осуществления ингибитор

контрольных точек представляет собой антитело к CD40. В одном варианте осуществления антитело к CD40 представляет собой CF-870893.

[00281] В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой рекомбинантный человеческий интерлейкин-15 (rhIL-15).

5 **[00282]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой ингибитор IDO. В одном варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой INCB024360. В другом варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой индоксимод.

[00283] В определенных вариантах осуществления средства комбинированной
10 терапии, предусмотренные в данном документе, содержат два или более ингибиторов контрольных точек, описанных в данном документе (включая ингибиторы контрольных точек одного и того же или другого класса). Более того, средства комбинированной терапии, описанные в данном документе, можно применять в комбинации с одним или несколькими вторыми активными средствами, описанными в
15 данном документе, если это подходит для лечения заболеваний, описанных в данном документе, и понятно из уровня техники.

[00284] В определенных вариантах осуществления соединение, предусмотренное в данном документе, и второе активное средство, предусмотренное в данном документе, можно применять в комбинации с одной или несколькими иммунными
20 клетками, экспрессирующими на своей поверхности один или несколько химерных антигенных рецепторов (CAR) (например, модифицированной иммунной клеткой). Как правило, CAR содержат внеклеточный домен из первого белка, (например, антигенсвязывающего белка), трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен. В определенных вариантах осуществления, как только
25 внеклеточный домен связывается с белком-мишенью, таким как опухолеспецифический антиген (TAA) или опухолеспецифический антиген (TSA), посредством внутриклеточного сигнального домена генерируется сигнал, который активирует иммунную клетку, например, для нацеливания и уничтожения клетки, экспрессирующей белок-мишень.

30 **[00285]** Внеклеточные домены: внеклеточные домены CAR связываются с представляющим интерес антигеном. В определенных вариантах осуществления внеклеточный домен CAR предусматривает рецептор или часть рецептора, которые связываются с указанным антигеном. В определенных вариантах осуществления внеклеточный домен предусматривает или представляет собой антитело или его

антигенсвязывающую часть. В конкретных вариантах осуществления внеклеточный домен предусматривает или представляет собой одноцепочечный Fv-домен (scFv).

Одноцепочечный Fv-домен может содержать, например, V_L , связанную с V_H гибким линкером, где указанные V_L и V_H происходят из антитела, которое связывает

5 указанный антиген.

[00286] В определенных вариантах осуществления антиген, распознаваемый внеклеточным доменом полипептида, описанного в данном документе, представляет собой опухолеассоциированный антиген (ТАА) или опухолеспецифический антиген (TSA). В различных конкретных вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген или опухолеспецифический антиген представляет собой без ограничения Her2, антиген стволовых клеток предстательной железы (PSCA), альфа-фетопротеин (AFP), карциноэмбриональный антиген (CEA), раковый антиген-125 (CA-125), CA19-9, кальретинин, MUC-1, антиген созревания В-клеток (BCMA), эпителиальный мембранный белок (EMA), эпителиальный опухолевый антиген (ETA), тирозиназу, антиген, ассоциированный с меланомой-24 (MAGE), CD19, CD22, CD27, CD30, CD34, CD45, CD70, CD99, CD117, EGFRvIII (вариант III эпидермального фактора роста), мезотелин, PAP (простатическую кислую фосфатазу), простеин, TARP (белок, представляющий собой Т-клеточный рецептор гамма, синтезирующийся с альтернативной рамки считывания), Tgr-p8, STEAPI (трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы 1, пронизывающий мембрану шесть раз), хромогранин, цитокератин, десмин, глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), белок жидкости, образующийся при макрокистозной болезни (GCDFP-15), антиген НМВ-45, белок мелан-А (антиген меланомы, распознаваемый Т-лимфоцитами; MART-1), мио-D1, мышечно-специфический актин (MSA), нейрофиламент, нейрон-специфическую енолазу (NSE), плацентарную щелочную фосфатазу, синаптофизис, тиреоглобулин, тиреоидный транскрипционный фактор-1, димерную форму изофермента пируваткиназы типа M2 (опухоль M2-ПК), аномальный белок gas или аномальный белок p53. В определенных других вариантах осуществления ТАА или TSA, распознаваемые внеклеточным доменом CAR, представляют собой интегрин $\alpha\beta 3$ (CD61), галактин или Ral-B.

30

[00287] В определенных вариантах осуществления ТАА или TSA, распознаваемые внеклеточным доменом CAR, представляют собой раковый/тестикулярный (CT) антиген, например, BAGE, CAGE, CTAGE, FATE, GAGE,

HCA661, HOM-TES-85, MAGEA, MAGEB, MAGEC, NA88, NY-ES0-1, NY-SAR-35, OY-TES-1, SPANXBI, SPA17, SSX, SYCPI или TPTE.

[00288] В определенных других вариантах осуществления ТАА или TSA, распознаваемые внеклеточным доменом CAR, представляют собой углевод или ганглиозид, например, fuc-GMI, GM2 (онкофетальный антиген-иммуногенный-1; OFA-I-1); GD2 (OFA-I-2), GM3, GD3 и т. п.

[00289] В определенных других вариантах осуществления ТАА или TSA, распознаваемые внеклеточным доменом CAR, представляют собой альфа-актинин-4, Vage-1, BCR-ABL, слитый белок Bcr-Abl, бета-катенин, CA 125, CA 15-3 (CA 27.29\BCAA), CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, Casp-8, cdc27, cdk4, cdkn2a, CEA, coa-1, слитый белок dek-can, EBNA, EF2, антигены вируса Эпштейна-Барр, слитый белок ETV6-AML1, HLA-A2, HLA-A11, hsp70-2, KIAA0205, Mart2, Mum-1, 2 и 3, нео-PAP, миозин класса I, OS-9, слитый белок pml-RAR α , PTPRK, K-ras, N-ras, триозофосфатизомеразу, Gage 3, 4, 5, 6, 7, GnTV, Herv-K-mel, Lage-1, NA-88, NY-Eso-1/Lage-2, SP17, SSX-2, TRP2-Int2, gp100 (Pmel17), тирозиназу, TRP-1, TRP-2, MAGE-1, MAGE-3, RAGE, GAGE-1, GAGE-2, p15(58), RAGE, SCP-1, Hom/Mel-40, PRAME, p53, HRas, HER-2/neu, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR, антигены E6 и E7 папилломавируса человека (HPV), TSP-180, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, p185erbB2, p180erbB-3, c-met, nm-23H1, PSA, TAG-72-4, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17.1, NuMa, K-ras, 13-катенин, Mum-1, p16, TAGE, PSMA, CT7, теломеразу, 43-9F, 5T4, 791Tgp72, 13HCG, BCA225, BTAA, CD68\KP1, C0-029, FGF-5, G250, Ga733 (EpCAM), HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB\70K, NY-C0-1, RCAS1, SDCCAG16, TA-90, TAAL6, TAG72, TLP или TPS.

[00290] В различных конкретных вариантах осуществления опухлеассоциированный антиген или опухолеспецифический антиген представляет собой AML-ассоциированный опухолевый антиген, как описано в S. Anguille *et al*, *Leukemia* (2012), 26, 2186-2196.

[00291] Специалистам в данной области техники известны другие опухлеассоциированные и опухолеспецифические антигены.

[00292] Рецепторы, антитела и scFv, которые связываются с TSA и ТАА, пригодные для конструирования химерных антигенных рецепторов, известны из уровня техники, как и нуклеотидные последовательности, которые их кодируют.

[00293] В определенных конкретных вариантах осуществления антиген, распознаваемый внеклеточным доменом химерного антигенного рецептора,

представляет собой антиген, обычно не считающийся TSA или TAA, но, тем не менее, ассоциированный с опухолевыми клетками или повреждением, вызванным опухолью. В определенных вариантах осуществления, например, антиген представляет собой, например, фактор роста, цитокин или интерлейкин, например, фактор роста, цитокин или интерлейкин, ассоциированный с ангиогенезом или васкулогенезом. Такие факторы роста, цитокины или интерлейкины могут предусматривать, например, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), основной фактор роста фибробластов (bFGF), фактор роста, полученный из тромбоцитов (PDGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), инсулин-подобный фактор роста (IGF) или интерлейкин-8 (IL-8). Опухоли также могут создавать гипоксическую среду рядом с опухолью. Таким образом, в других конкретных вариантах осуществления антиген представляет собой фактор, ассоциированный с гипоксией, например, HIF-1 α , HIF-1 β , HIF-2 α , HIF-2 β , HIF-3 α или HIF-3 β . Опухоли также могут вызывать локальное повреждение нормальной ткани, вызывая высвобождение молекул, известных как молекулы, представляющие собой молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением (DAMP, также известные как алармины). Таким образом, в определенных других конкретных вариантах осуществления антиген представляет собой DAMP, например, белок теплового шока, хроматин-ассоциированный белок 1 высококомобильной группы (HMGB 1), S100A8 (MRP8, кальгранулин A), S100A9 (MRP14, кальгранулин B), сывороточный амилоид A (SAA), или может представлять собой дезоксирибонуклеиновую кислоту, аденозинтрифосфат, мочевую кислоту или гепаринсульфат.

[00294] Трансмембранный домен: в определенных вариантах осуществления внеклеточный домен CAR присоединен к трансмембранному домену полипептида посредством линкерной, спейсерной или шарнирной полипептидной последовательности, например, последовательности из CD28 или последовательности из CTLA4. Трансмембранный домен можно получать из трансмембранного домена любого трансмембранного белка, или трансмембранный домен может происходить из него, и может предусматривать весь такой трансмембранный домен или его часть. В конкретных вариантах осуществления трансмембранный домен можно получать, например, из CD8, CD16, рецептора цитокина и рецептора интерлейкина или рецептора фактора роста и т. п., или может происходить из них.

[00295] Внутриклеточные сигнальные домены: в определенных вариантах осуществления внутриклеточный домен CAR представляет собой или предусматривает внутриклеточный домен или мотив белка, который экспрессируется на поверхности T-

клеток и запускает активацию и/или пролиферацию указанных Т-клеток. Такой домен или мотив способен передавать первичный сигнал о связывании антигена, который необходим для активации Т-лимфоцита в ответ на связывание антигена с внеклеточной частью CAR. Как правило, этот домен или мотив содержит или представляет собой ИТАМ (иммунорецепторный активирующий мотив на основе тирозина). ИТАМ-содержащие полипептиды, подходящие для CAR, предусматривают, например, дзета-цепь CD3 (CD3 ζ) или ее ИТАМ-содержащие части. В конкретном варианте осуществления внутриклеточный домен представляет собой внутриклеточный сигнальный домен CD3 ζ . В других конкретных вариантах осуществления внутриклеточный домен происходит из цепи рецептора лимфоцитов, белка из комплекса TCR/CD3, субъединицы рецептора Fe или субъединицы рецептора IL-2. В определенных вариантах осуществления CAR дополнительно содержит один или несколько костимулирующих доменов или мотивов, например, как часть внутриклеточного домена полипептида. Один или несколько костимулирующих доменов или мотивов могут представлять собой или могут содержать одну или несколько из костимулирующей полипептидной последовательности CD27, костимулирующей полипептидной последовательности CD28, костимулирующей полипептидной последовательности OX40 (CD134), костимулирующей полипептидной последовательности 4-1BB (CD137) или костимулирующей полипептидной последовательности индуцируемого Т-клеточного костимулятора (ICOS), или другого костимулирующего домена или мотива, или любую их комбинацию.

[00296] CAR также может содержать мотив выживания Т-клеток. Мотив выживания Т-клеток может представлять собой любую полипептидную последовательность или мотив, который способствует выживанию Т-лимфоцитов после стимуляции антигеном. В определенных вариантах осуществления мотив выживания Т-клеток представляет собой CD3, CD28, внутриклеточный сигнальный домен рецептора IL-7 (IL-7R), внутриклеточный сигнальный домен рецептора IL-12, внутриклеточный сигнальный домен рецептора IL-15, внутриклеточный сигнальный домен рецептора IL-21 или внутриклеточный сигнальный домен рецептора трансформирующего фактора роста β (TGF β), или получен из них.

[00297] Модифицированные иммунные клетки, экспрессирующие CAR, могут являться, например, Т-лимфоцитами (Т-клетками, например, CD4⁺ Т-клетками или CD8⁺ Т-клетками), цитотоксическими лимфоцитами (CTL) или естественными киллерами (NK). Т-лимфоциты, используемые в композициях и способах,

предусмотренных в данном документе, могут являться наивными Т-лимфоцитами или МНС-рестриктированными Т-лимфоцитами. В определенных вариантах осуществления Т-лимфоциты представляют собой лимфоциты, инфильтрирующие опухоль (TIL). В определенных вариантах осуществления Т-лимфоциты были
5 выделены из биоптата опухоли или были размножены из Т-лимфоцитов, выделенных из биоптата опухоли. В определенных других вариантах осуществления Т-клетки были выделены или размножены из Т-лимфоцитов, выделенных из периферической крови, пуповинной крови или лимфы. Иммунные клетки, подлежащие применению для получения модифицированных иммунных клеток, экспрессирующих CAR, можно
10 выделять с применением принятых в данной области техники рутинных способов, например, сбора крови с последующим аферезом и необязательно выделением или сортировкой клеток, опосредованными антителами.

[00298] Модифицированные иммунные клетки предпочтительно являются аутологичными по отношению к индивидууму, которому должны быть введены
15 модифицированные иммунные клетки. В определенных других вариантах осуществления модифицированные иммунные клетки являются аллогенными по отношению к индивидууму, которому должны быть введены модифицированные иммунные клетки. Если для получения модифицированных Т-лимфоцитов используются аллогенные Т-лимфоциты или НК-клетки, предпочтительно отбирать Т-
20 лимфоциты или НК-клетки, которые будут снижать вероятность реакции трансплантат против хозяина (GVHD) у индивидуума. Например, в определенных вариантах осуществления для получения модифицированных Т-лимфоцитов отбирают вирус-специфические Т-лимфоциты; ожидается, что такие лимфоциты будут характеризоваться значительно сниженной нативной способностью связываться с
25 любыми реципиентными антигенами и, таким образом, активироваться ими. В определенных вариантах осуществления степень опосредованного реципиентом отторжения аллогенных Т-лимфоцитов можно снизить посредством совместного введения хозяину одного или нескольких иммуносупрессивных средств, например, циклоспорина, такролимуса, сиролимуса, циклофосфамида и т. п.

[00299] Т-лимфоциты, например, немодифицированные Т-лимфоциты или Т-лимфоциты, экспрессирующие CD3 и CD28, или содержащие полипептид, содержащий сигнальный домен CD3 ζ и костимулирующий домен CD28, можно размножить с применением антител к CD3 и CD28, например, антител, прикрепленных к гранулам;

см., например, патенты США №№ 5948893; 6534055; 6352694; 6692964; 6887466 и 6905681.

[00300] Модифицированные иммунные клетки, например, модифицированные Т-лимфоциты, могут необязательно содержать "суицидный ген" или "предохранитель", который позволяет при необходимости уничтожить практически все модифицированные иммунные клетки. Например, модифицированные Т-лимфоциты в определенных вариантах осуществления могут содержать ген тимидинкиназы HSV (HSV-TK), который вызывает гибель модифицированных Т-лимфоцитов при контакте с ганцикловиром. В другом варианте осуществления модифицированные Т-лимфоциты содержат индуцируемую каспазу, например, индуцируемую каспазу 9 (icaspase9), например, слитый белок, полученный из каспазы 9 и белка, связывающего FK506 человека, обеспечивающий димеризацию при применении специфического фармацевтического препарата, представляющего собой малую молекулу. См. Straathof *et al.*, *Blood* 105(11):4247-4254 (2005).

[00301] В определенных вариантах осуществления соединение, предусмотренное в данном документе, и второе активное средство, предусмотренное в данном документе, вводят пациентам с различными типами или стадиями множественной миеломы в комбинации с Т-клетками с химерным антигенным рецептором (CAR). В определенных вариантах осуществления Т-клетка с CAR в комбинации нацелена на антиген созревания В-клеток (BCMA), и в более конкретных вариантах осуществления Т-клетка с CAR представляет собой bb2121 или bb21217. В некоторых вариантах осуществления Т-клетка с CAR представляет собой JCARH125.

[00302] Следует понимать, что вышеизложенное подробное описание и прилагаемые примеры являются исключительно иллюстративными и их не следует воспринимать в качестве ограничений объема рассматриваемого предмета. Различные изменения и модификации раскрытых вариантов осуществления будут очевидны специалистам в данной области техники. Такие изменения и модификации, в том числе без ограничения относящиеся к химическим структурам, заместителям, производным, промежуточным соединениям, видам синтеза, составам и/или способам применения, предусмотренным в данном документе, могут быть выполнены без отклонения от его сути и объема. Патенты и публикации США, процитированные в данном документе, включены в него посредством ссылки.

8. ПРИМЕРЫ

[00303] Определенные варианты осуществления настоящего изобретения проиллюстрированы с помощью следующих неограничивающих примеров.

Пример 1. Ингибирование PLK1 снижает пролиферацию клеток в линиях клеток множественной миеломы

[00304] **Линии клеток.** Все линии клеток MM (ATCC, Манассас, Вирджиния, США) регулярно тестировали в отношении микоплазмы и поддерживали в среде RPMI 1640 с добавлением L-глутамина, фетальной бычьей сыворотки, пенициллина и стрептомицина (все от Invitrogen, Карлсбад, Калифорния). Эти линии клеток регулярно подтверждали.

[00305] **Антитела.** В этих экспериментах для иммуноблоттинга и проточной цитометрии применяли несколько антител, в том числе Plk1 (кат. № 4513), Aiolos (кат. № 15103), Ikaros (кат. № 14859), CDC25C (кат. № 4688), pCDC25C (кат. № 4901), расщепленная каспаза 3 (кат. № 9664), сурвивин (кат. № 2803), Bcl2 (кат. № 2872), BRD4 (кат. № 13440), c-Мyc (кат. № 5605), pERK (кат. № 4376), ERK (кат. № 4695), IRF7 (кат. № 13014), FOXM1 (кат. № 5436), фосфогистон H3 (Ser10) (D2C8) (Alexa Fluor[®], конъюгат 594) (кат. № 8481), все от Cell signaling Technologies (Данверс, Массачусетс, США), E2F2 (кат. № Ab-138515, Abcam, Кембридж, Массачусетс, США), CKS1B (кат. № 36-6800, Invitrogen, Уолтем, Массачусетс, США), NUF2 (кат. № NBP2-43779, Новус Сент-Чарльз, Миссури, США), TOP2A (кат. № PA5-46814, Invitrogen, Уолтем, Массачусетс, США), ETV4 (кат. № 10684-1, Invitrogen, Уолтем, Массачусетс, США), IRF5 (кат. № 10547-1-AP, Proteintech, Роузмонт, Иллинойс).

[00306] **Анализ пролиферации и жизнеспособности.** Кривые роста клеток определяли посредством мониторинга жизнеспособности клеток с исключением трипанового синего на Vi-Cell-XR (Becton Dickinson, Франклин Лейкс, Нью-Джерси, США). Анализ пролиферации выполняли в трех повторностях, по меньшей мере три раза ($n = 3$) с применением включения (3H)-тимидина. Все данные наносили на график и анализировали с применением программного обеспечения GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Ла-Хойя, Калифорния, США), представленные в виде среднего значения с ошибкой, определенной как \pm с.отк.

[00307] **Иммуноблоттинг.** Иммуноблоттинговый анализ проводили с применением наборов WES (Protein Simple, Сан-Хосе, Калифорния, США) по меньшей мере два раза каждый ($n \geq 2$), где показан лучший представитель.

[00308] *Экстракция РНК, обратная транскрипция и ПЦР-анализ в реальном времени.* Общую РНК экстрагировали с применением набора RNeasy plus (Qiagen, Джермантаун, Мэриленд, США) и подвергали обратной транскрипции с применением набора для обратной транскрипции iScript (Bio-Rad, Филадельфия, Пенсильвания, США). Количественный анализ ПЦР в реальном времени (qPCR) проводили с применением Taqman PCR Master Mix и системы ПЦР в реальном времени ViiA 7 (Applied Biosystems, Фостер-Сити, Калифорния, США). Экспрессию генов рассчитывали после нормализации по уровням GAPDH с применением сравнительного метода СТ (метод ΔΔСТ). Последовательности праймеров для qPCR являются следующими: PLK1 RT F: CACAGTGTCAATGCCTCCAA (SEQ ID NO: 1), PLK1 RT R: GACCCAGAAGATGGGGATG (SEQ ID NO: 2), ACTB RT F: CTCTTCCAGCCTTCCTTCCT (SEQ ID NO: 3), ACTB RT R: GGATGTCCACGTCACACTTC (SEQ ID NO: 4).

[00309] *Исследования ПЦР ChIP и ChIP-seq.* Эксперименты по ПЦР ChIP и секвенированию ChIP в линиях клеток H929 и DF15 проводили с применением стандартных способов. Последовательности праймеров для ПЦР ChIP являются следующими: Сайты инициации транскрипции PLK1 (TSS) ChIP F: GCGCAGGCTTTTGTAACG (SEQ ID NO: 5), PLK1 TSS ChIP R: CTCCTCCCCGAATTCAAAC (SEQ ID NO: 6).

[00310] *Проточная цитометрия.* Конъюгированное с Alexa Fluor 488 антитело к аннексину V (Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) и To-Pro-3 (Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) применяли в соответствии с протоколом производителя и обрабатывали с применением программного обеспечения Flow Jo в течение по меньшей мере трех независимых экспериментов. Для анализа клеточного цикла клетки окрашивали с помощью набора для окрашивания на основе йодида пропидия (PI) (Abscam, Кембридж, Массачусетс, США), и анализ выполняли с помощью программного обеспечения Flow Jo V10. Окрашивание митотического маркера рHH3-Ser¹⁰ также проводили с помощью рHH3-Ser¹⁰ и двойного окрашивания PI.

[00311] *Конфокальная визуализация.* Клетки культивировали на предметных стеклах с камерами и фиксировали пермеабиллизированными для микроскопии. Клетки инкубировали с первичными антителами, нацеленными на PLK1, CDC25C, в 1 x внутриклеточном буфере для окрашивания в течение 2 часов в холодной комнате. Затем клетки окрашивали конъюгированными с Alexa Fluor 488 и 594 вторичными

антителами в течение 30 минут при к. т., промывали и контрокрашивали с помощью DAPI. Конфокальные изображения получали с помощью Nikon A1R (Мелвилл, Нью-Йорк, США).

[00312] *Анализ транскриптов отдельных клеток.* Секвенирование отдельных

5 клеток выполняли в соответствии с инструкциями производителя с применением наборов 10x genomics (Плезантон, Калифорния, США). Наборы данных анализировали с помощью конвейера Cell Ranger 10x genomics с применением алгоритма Seurat.

[00313] *Нокдаун shRNA:* Индуцируемые доксициклином (DOX) конструкции shRNA, нацеленные на PLK1, создавали с помощью Collecta (Маунтин-Вью,

10 Калифорния, США) с применением плазмиды pSITEP-U6Tet-(sh)-EF1-TetRep-2A-Rigo. Отрицательный контроль люциферазы создавали, как описано ранее (PMID: 21189262). Вкратце, клетки 293Т подвергали совместной трансфекции с помощью смеси плазмид для упаковывания лентивирусов (Collecta, кат. № CPCP-K2A) и конструкций pSITEP-shRNA. Вирусные частицы собирали через 48 часов после трансфекции и затем концентрировали в 10 раз с помощью центрифужных фильтров Amicon Ultra-15. Для инфекций клетки инкубировали в течение ночи с концентрированными образцами надосадочной жидкости, содержащей вирусные частицы, в присутствии 8 мкг/мл полибрена. Затем клетки промывали с удалением полибрена. Через 48 часов после инфицирования клетки отбирали с помощью

15

20 пурамицина (1 мкг/мл) в течение более чем 3 недель до экспериментов.

Последовательности shRNA-мишени представляли собой shRNA1 PLK1:

GTTCTTTACTTCTGGCTATAT (SEQ ID NO: 7); shRNA2 PLK1:

CTGCACCGAAACCGAGTTATT (SEQ ID NO: 8).

[00314] **Результаты.**

25 **[00315]** **Активация PLK1 ассоциирована с высоким риском заболевания и рецидива у пациентов с ММ.** Экспрессию PLK1 анализировали в наборах данных от впервые диагностированных лиц (MMRF) и лиц с рефрактерным рецидивом (MM010). Изменения выживаемости представлены в виде без прогрессирования и общей выживаемости. В обоих наборах данных более высокий уровень экспрессии PLK1 был ассоциирован со значительно более низкой выживаемостью без прогрессирования и

30

общей выживаемостью (**фигуры 1A – 1D**). Дополнительно оценивали экспрессию PLK1 в различных кластерах проекта генома миеломы (MGP). Было обнаружено, что уровень экспрессии PLK1 наиболее высок в кластере высокого риска (данные не показаны). Анализ экспрессии PLK1 в 12 парных образцах отсортированных CD138+

клеток пациентов с ММ, полученных до начала лечения с помощью леналидомида и после развития устойчивости, с помощью RNA-seq. Экспрессия PLK1 была значительно ($FDR < 0,00001$) повышена у пациентов при рецидиве (**фигура 1E**).

Каждый из двенадцати пациентов с рецидивом продемонстрировал повышение
5 уровней PLK1 во время рецидива. Анализ паттерна экспрессии PLK1 на различных стадиях прогрессирования и рецидива заболевания ММ в наборах данных экспрессии генов клиники Мейо показал значительное увеличение экспрессии PLK1 в когорте пациентов с рецидивом с тенденцией к увеличению по мере прогрессирования заболевания (**фигура 1F**).

10 **[00316] Передача сигнала PLK1 подавляется в ответ на антипролиферативные соединения в чувствительных клетках.** Был проанализирован эффект помалидомида на изогенно-чувствительные (EJM) и устойчивые (EJM-PR) линии клеток и линии клеток MM1.S. Основываясь на изменениях пролиферации, линия клеток MM1.S показала наиболее высокую
15 чувствительность к помалидомиду, и EJM-PR была наиболее устойчивой. Для установления роли PLK1 в ответе на помалидомид, линии клеток EJM и EJM-PR обрабатывали помалидомидом и анализировали изменения уровней PLK1 и нижерасположенной передачи сигнала. Обработка помалидомидом вызывала дозозависимое снижение уровней PLK1 и нижерасположенных эффекторов pCDC25C
20 и CDC25C только в чувствительных клетках (**фигура 2A** и **фигура 2B**). Экспрессия гена CDC25C достоверно коррелирует с экспрессией PLK1 в MGP. В ответ на помалидомид субстраты цереблona Ikaros и Aiolos также подавлялись в чувствительных к помалидомиду клетках. Было показано, что антипролиферативные средства, такие как соединение 5, более эффективны в опосредовании деградации
25 субстрата. Клетки MMS.1, обработанные возрастающими концентрациями помалидомида и соединения 5, показали дозозависимое снижение передачи сигнала PLK1 обоими ингибиторами (**фигура 2C**). В соответствии с различиями в активности этих двух ингибиторов, соединение 5 продемонстрировало снижение уровней PLK1 и его нижерасположенной передачи сигнала при дозе, являющейся в десять раз более
30 низкой, по сравнению с помалидомидом. Линия клеток MMS.1 продемонстрировала более заметное снижение уровней PLK1 при соответствующих дозах помалидомида по сравнению с клетками EJM, что коррелирует с различиями в чувствительности двух линий клеток к помалидомиду. Изменения уровней транскриптов PLK1 дополнительно исследовали в ответ на обработку помалидомидом в клетках MM1.S, и обработки

снижали уровни транскриптов PLK1 дозозависимым образом (**фигура 2D**).

Конфокальную микроскопию проводили для изучения изменений в окрашивании PLK1 и CDC25C в клетках MM1.S, и наблюдали снижение уровней PLK1 и одновременное уменьшение окрашивания CDC25C в ответ на обработку помалидомидом и

5 соединением 5. Кроме того, анализ ПЦР ChIP выявил связывание Aiolos и Ikaros с сайтами инициации транскрипции (TSS) PLK1, которое устранялось в ответ на помалидомид (**фигура 2E**). Дальнейший анализ наборов данных для секвенирования ChIP Aiolos подтвердил связывание Aiolos с TSS PLK1 с перекрывающейся сигнатурой активации транскрипции H3K27Ac, экстраполированной из общедоступных наборов
10 данных для секвенирования ChIP в линии клеток GM12878 (проект Encode). Поскольку изменения уровней PLK1 обусловлены снижением транскрипции PLK1 в ответ на антипролиферативные соединения, анализировали эффекты нокдаунов Aiolos и Ikaros на уровни PLK1 с применением клеток MM1.S с индуцируемой экспрессией shRNA Aiolos и Ikaros. Нокдаун как Aiolos, так и Ikaros приводит к снижению уровней PLK1
15 (**фигура 2F**), что указывает на регуляцию транскрипции PLK1 субстратами цереблona.

[00317] Обработка соединением 5 вызывала уменьшение фазы G2-M клеточного цикла. Поскольку PLK1 играет важную роль в фазах G2 и митоза клеточного цикла, исследовали изменения клеточного цикла в ответ на соединение 5, и показали, что обработки соединением 5 вызывали дозозависимое повышение
20 популяции sub-G1 (5,02, 4,98, 11,3, и 13,9 для носителя, соединение 5 при 10 нМ, соединение 5 при 30 нМ и соединение 5 при 100 нМ соответственно) и G0-G1 (69,2, 75,8, 78,3 и 75,1 для носителя, соединение 5 при 10 нМ, соединение 5 при 30 нМ и соединение 5 при 100 нМ соответственно) и одновременное уменьшение популяции G2-M (16,3, 12,3, 6,94 и 6,27 для носителя, соединение 5 при 10 нМ, соединение 5 при
25 30 нМ и соединение 5 при 100 нМ соответственно). С применением проточной цитометрии измеряли изменения в фосфосер10-гистоне H3, который является специфическим маркером фазы G2-M. В соответствии с общим распределением клеточного цикла уровни фосфосер10-гистона H3 также снижались дозозависимым образом в ответ на обработку соединением 5 (16,5, 9,3, 6,37 и 4,53 для носителя,
30 соединение 5 при 10 нМ, соединение 5 при 30 нМ и соединение 5 при 100 нМ соответственно). Чтобы доказать, что наблюдаемые изменения в передаче сигнала PLK1 не являются следствием выхода из митоза, анализировали изменения в передаче сигнала PLK1 после обработки клеток нокодазолом и соединением 5 и их комбинацией с применением различных временных точек. Нокодазол синхронизирует клетки в фазе

G2-M клеточного цикла. Во временных точках, соответствующих 30 минутам, 2 часам и 6 часам после восстановления от ночной обработки нокодазолом уровни PLK1 были выше по сравнению с таковыми в условиях, предполагающих носитель **(фигура 3)**.

Затем, вследствие восстановления синхронизации клеточного цикла после обработки нокодазолом, уровни PLK1 нормализовались. В ответ на обработку соединением 5, в то время как деградация I κ B α начиналась через 30 минут обработок, снижение уровней PLK1 и CDC25C было очевидным через 48 часов после обработки. В ответ на комбинированную обработку нокодазолом и соединением 5 снижение уровней PLK1 ускорилось. Изменения расщепленной каспазы 3 обратно коррелировали с уровнями PLK1, с повышением расщепленной каспазы 3 через 48 и 72 часа после обработки соединением 5, со снижением уровней PLK1. Исследования клеточного цикла соответствовали этим временным точкам. Обработка нокодазолом показала увеличение количества клеток G2-M в ранние временные точки восстановления. Обработка соединением 5 вызывала первоначальное увеличение количества клеток G1, за которым следовало увеличение количества sub-G1 и уменьшение количества клеток G2-M через 48 и 72 часа (данные не показаны). В случае комбинированной обработки нокодазолом и соединением 5 наблюдалось ускоренное снижение количества клеток G2-M и более высокое увеличение количества клеток суб-G1.

[00318] Клетки, устойчивые к помалидомиду, демонстрировали активированную передачу сигнала PLK1 и усиленный митоз. Для исследования роли PLK1 в устойчивости к помалидомиду анализировали уровни PLK1, CDC25C и pCDC25C и цереблona в шести чувствительных и устойчивых к помалидомиду изогенных парах линий клеток, а именно AMO1 и AMO1-PR (устойчивых к помалидомиду), H929 и H929-PR, K12PE и K12PE-PR, K12BM и K12BM-PR, EJM и EJM-PR, и MMS.1 и MMS.1PR. Эти линии клеток разрабатывали с помощью воздействия на них возрастающих концентраций помалидомида в течение трех-четырёх месяцев. Уровни PLK1 были умеренно повышены в устойчивой версии четырех из шести линий клеток **(фигура 4A)**. Устойчивые линии клеток также продемонстрировали переменную потерю уровней цереблona по сравнению с исходными клетками. Исследования распределения асинхронного клеточного цикла, сравнивающие исходные и устойчивые линии клеток, продемонстрировали повышенную долю клеток G2-M в пяти из шести устойчивых линий клеток **(фигура 4B)**. Для дополнительного анализа изменений экспрессии PLK1 на различных фазах клеточного цикла между чувствительными и устойчивыми линиями клеток выполняли

секвенирование РНК отдельных клеток в линиях клеток АМО1 и АМО1-PR.

Кластерный анализ экспрессии генов, основанный на характерных генах клеточного цикла, выявил существенно ограниченную экспрессию PLK1 в фазе G2-M клеточного цикла и подтвердил повышенную экспрессию PLK1 в клетках АМО1-PR по сравнению с исходными АМО1 (данные не показаны). Было обнаружено, что Aiolos и Ikaros экспрессируются более универсально в разных фазах клеточного цикла (данные не показаны).

[00319] Комбинация ингибитора PLK1 с соединением 5 демонстрирует превосходную активность в клетках АМО1-PR по сравнению с исходными АМО-

10 **1.** Ингибитор PLK1 BI2536 и соединение 5 тестировали в отношении их активности в качестве индивидуальных средств и в комбинации в исходных линиях клеток АМО1 и АМО1-PR. BI2536 показал дозозависимое снижение пролиферации в комбинации с соединением 5 (**фигура 5A, фигура 5C**). Анализ синергизма с применением программного обеспечения CalcuSyn показал, что комбинированная обработка была синергичной при нескольких концентрациях BI2536 и соединения 5 (**фигура 5B, фигура 5D**). Клетки АМО1-PR демонстрировали более выраженное снижение пролиферации в ответ на BI2536, и несколько концентраций BI2536 характеризовались синергизмом с соединением 5 в этих клетках. Эти результаты предполагают более высокую зависимость клеток АМО1-PR от передачи сигнала PLK1. Другая пара чувствительных и устойчивых к помалидомиду линий клеток K12PE и K12PE-PR продемонстрировала аналогичную синергетическую активность комбинации BI2536 и соединения 5 (**фигура 5E, фигура 5F, фигура 5G, фигура 5H**). Изменения апоптоза анализировали с применением обработок одним средством и их комбинации с применением окрашивания аннексином V и Topro. Обработка BI2536 одним средством вызывала умеренное повышение раннего (10,9% в сравнении с 2,69%) и позднего апоптоза (4,25% в сравнении с 2,24%) по сравнению с носителем в клетках АМО-1 (**фигура 5I**). Обработка соединением 5 показала легкое повышение раннего апоптоза (4,86% в сравнении с 2,69%) и почти отсутствие эффекта в отношении позднего апоптоза (3,07% в сравнении с 2,24%) по сравнению с носителем. Комбинированная обработка BI2536 и соединением 5 продемонстрировала более выраженное повышение раннего (22,7% в сравнении с 2,69%) и позднего апоптоза (7,09% в сравнении с 2,24%) по сравнению с носителем. В случае клеток АМО1-PR одно средство, представляющее собой BI2536, было более эффективным, чем исходные клетки АМО-1 с изменениями раннего (23,2% в сравнении с 3,82%) и позднего апоптоза (7,55% в сравнении с 2,77%)

по сравнению с носителем. В этих клетках также комбинация BI2536 с соединением 5 продемонстрировала более высокий ранний (33,3% в сравнении с 3,82%) и поздний (11,8 в сравнении с 2,77%) апоптоз по сравнению с носителем (**фигура 5J**). Механизм синергизма для обработок BI2536 и соединением 5 исследовали с помощью изучения изменений в клеточном цикле и правильности митоза. В клетках AMO1 обработка с помощью BI2536 вызывала умеренное увеличение популяции G2-M и полиплоидии, что согласуется с описанным механизмом действия ингибитора. Соединение 5 вызывало умеренное увеличение количества клеток G0-G1 и уменьшению количества клеток G2-M. Комбинированная обработка продемонстрировала увеличение количества клеток sub-G1 по сравнению с обработками одним средством, что согласуется с изменениями апоптоза. В случае клеток AMO1-PR BI2536 вызывал более значимое увеличение количества клеток G2-M, полиплоидии и количества клеток sub-G1 по сравнению с исходными клетками AMO1. Комбинация BI2536 и соединения 5 продемонстрировала более высокое увеличение количества клеток sub-G1 по сравнению с отдельными обработками. Изменения Ikaros и передачи сигнала, способствующих выживанию, в этих линиях клеток анализировали в ответ на BI2536 и соединение 5 через 24 и 72 часа обработки (**фигура 5K**). Уровни Ikaros снижались в ответ на соединение 5 как в клетках AMO1, так и в клетках AMO-1 PR. Комбинация BI2536 и соединения 5 приводила к большему снижению его уровней через 24 часа. Следовательно, уровни расщепленной каспазы 3 были более значимо повышены через 72 часа после комбинированной обработки как в линиях клеток AMO1, так и в линиях клеток AMO1-PR. Сигнальные маркеры, способствующие выживанию, представляющие собой сурвивин и Bcl2, продемонстрировали большее снижение в комбинации BI2536 и соединения 5 через 24 часа по сравнению с отдельными средствами, что могло привести к последующему усилению апоптоза, о чем свидетельствуют уровни расщепленной каспазы 3. Экспрессия гена сурвивина достоверно коррелирует с экспрессией PLK1. Кроме того, конфокальная визуализация для изучения изменений в окрашивании DAPI в клетках AMO1 и AMO1PR в ответ на эти обработки предполагает более высокие митотические ошибки для комбинации BI2536 и BI2536 и соединения 5 в этих линиях клеток (данные не показаны).

[00320] Синергическая цитотоксичность комбинации BI2536 и соединения 5 в рефрактерных клетках. Поскольку экспрессия PLK1 была выше в кластере высокого риска в MGP, активность ингибитора PLK1 в комбинации с соединением 5 анализировали в рефрактерной линии клеток, представляющей собой Mc-CAR. В

клетках Mc-CAR BI2536 в комбинации с соединением 5 продемонстрировал синергетическое снижение клеточной пролиферации при различных концентрациях (фигура 6А, фигура 6В). Комбинированная обработка вызывала более выраженное снижение уровней Aiolos и Ikaros (фигура 6С) и результативное повышение остановки sub-G1 по сравнению с отдельными обработками (данные не показаны).

[00321] Нокдаун PLK1 снижает пролиферацию и повышение апоптоза у клеток AMO1 и AMO1-PR. Для дополнительного установления роли PLK1 в устойчивости осуществляли индуцируемый нокдаун PLK1 в линиях клеток AMO1 и AMO1-PR. Две индуцируемые shRNA PLK1 продемонстрировали устойчивый нокдаун белка PLK1 в линиях клеток AMO1 и AMO1-PR и вызывали значимое снижение клеточной пролиферации через 48 и 72 часа после индукции нокдауна по сравнению с контрольной shRNA. В обеих линиях клеток нокдаун приводил к остановке G2-M и увеличению популяции sub-G1 через 48 и 72 часа. Анализ апоптоза дополнительно подтвердил повышение апоптоза как следствие нокдауна с применением shRNA PLK1 в линиях клеток AMO1 и AMO1-PR, при этом клеточная линия AMO1-PR демонстрирует в целом более высокий уровень апоптоза.

[00322] Нацеливание на PLK1 в сегменте P53 с нарушенной регуляцией. С целью дополнительной идентификации сегмента пациентов с ММ, поддающегося клиническому действию для нацеливания на PLK1, анализировали экспрессию PLK1 в двуаллельном сегменте P53, поскольку PLK1 регулирует стабильность P53. В MGP пациенты с двуаллельным P53 продемонстрировали значительно повышенную экспрессию PLK1 (фигура 7А), что указывает на антагонистические отношения этих двух белков. Кроме того, ингибитор PLK1, BI2536, показал более высокую активность в двуаллельной линии клеток P53 K12PE по сравнению с клетками AMO1 с P53 дикого типа (фигура 7В), что указывает на возможность нацеливания на сегмент P53 с нарушенной функцией.

Пример 2. Ингибирование ВЕТ снижает пролиферацию клеток в линиях клеток множественной миеломы

[00323] Способы.

[00324] Пациенты и наборы данных. Проект генома миеломы (MGP) представляет собой совместную исследовательскую инициативу по сбору и однообразному анализу наборов генетических данных, созданных на основе образцов, полученных от пациентов с ММ. Данные секвенирования следующего поколения (NGS) пациентов с NDMM в наборе данных MGP обрабатывали и анализировали

однообразным образом, как описано. Для этого анализа применяли пациентов с полным набором данных ($n = 514$) из полного набора данных MGP ($N = 1273$), в том числе полноэкзомного и геномного секвенирования (WES и WGS), секвенирования РНК (RNA-seq), выживаемости без прогрессирования (PFS) и общей выживаемости (OS). Различия между дизайном исследований, подходами к сбору данных и секвенированию привели к неоднородной доступности всех характеристик данных для всех пациентов в наборе данных MGP.

[00325] Клеточные линии: Все линии клеток ММ (ATCC, Манассас, Вирджиния, США) регулярно тестировали на наличие микоплазмы и поддерживали, как описано ранее в примере 1.

[00326] Антитела. В этих экспериментах для иммуноблоттинга применяли несколько антител, в том числе Aiolos (кат. № 15103), Ikaros (кат. № 14859), BRD4 (кат. № 13440), с-Мус (кат. № 5605), расщепленную каспазу 3 (кат. № 9664), сурвивин (кат. № 2803), GAPDH (кат. № 14C10), все от Cell signaling Technologies (Данверс, Массачусетс, США), E2F2 (кат. № Ab-138515, Abcam, Кембридж, Массачусетс, США), CKS1B (кат. № 36-6800, Invitrogen, Уолтем, Массачусетс, США), PRKDC (кат. № 4602, Cell signaling, Дэнверс, Массачусетс, США), NUP93 (кат. № A303-979A, Bethyl Laboratories Montgomery, Техас, США), RUSC1 (кат. № NBP1-81006, Novus, Сент-Чарльз, Миссури, США), RBL1 (кат. № TA811337, Роквилл, Мэриленд, США), NUF2 (кат. № NBP2-43779, Novus, Сент-Чарльз, Миссури, США), TOP2A (кат. № PA5-46814, Invitrogen, Уолтем, Массачусетс, США), KI67-FITC (кат. № NBP2-2211F, Novus, Сент-Чарльз, Миссури, США) и расщепленную каспазу 3-AF488 (кат. № IC835G, Миннеаполис, Миннесота, США).

[00327] Анализы пролиферации и жизнеспособности. Кривые роста клеток определяли посредством мониторинга жизнеспособности клеток с исключением трипанового синего на Vi-Cell-XR (Becton Dickinson, Франклин Лейкс, Нью-Джерси, США). Анализы пролиферации выполняли в трех повторностях, по меньшей мере три раза ($n = 3$) с применением включения (3H)-тимидина. Все данные наносили на график и анализировали с применением программного обеспечения GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Ла-Хойя, Калифорния, США), представленные в виде среднего значения с ошибкой, определенной как \pm с.отк.

[00328] Иммуноблоттинг. Иммуноблоттинговый анализ проводили, как предложено, с применением наборов WES (Protein Simple, Сан-Хосе, Калифорния, США) по меньшей мере два раза каждый ($n \geq 2$), где показан лучший представитель.

[00329] Экстракция РНК, обратная транскрипция и ПЦР-анализ в реальном времени. Общую РНК экстрагировали с применением набора RNeasy plus (Qiagen, Джермантаун, Мэриленд, США) и подвергали обратной транскрипции с применением набора для обратной транскрипции iScript (Bio-Rad, Филадельфия, Пенсильвания, США). Количественный анализ ПЦР в реальном времени (qPCR) проводили с применением Taqman PCR Master Mix и системы ПЦР в реальном времени ViiA 7 (Applied Biosystems, Фостер-Сити, Калифорния, США). Экспрессию генов рассчитывали после нормализации по уровням GAPDH с применением сравнительного метода СТ (метод ΔΔСТ). Последовательности праймеров для qPCR приведены в следующей таблице.

Перечень праймеров и их последовательностей MR и генов-мишеней, используемых для исследований транскриптов

Олигонуклеотидная последовательность (от 5' до 3')	Название олигонуклеотида	Олигонуклеотидная последовательность (от 5' до 3')	Название олигонуклеотида
ACTGGAAGTGCCCGACAG (SEQ ID NO: 9)	E2F2 F	ACGGAGAAAGCATGAGCAAT (SEQ ID NO: 31)	BUB1 F
TCCTCTGGGCACAGGTAG AC (SEQ ID NO:10)	E2F2 R	CAAAAGCATTTGCTTCTTTCT (SEQ ID NO: 32)	BUB1 R
ATCTTGGCGTTCAGCAGAGT (SEQ ID NO: 11)	CKS1B F	GCTGGATCCACCAAAGATGT (SEQ ID NO: 33)	TOP2A F
CGGAACAGCAAGATGTGAGG (SEQ ID NO: 12)	CKS1B R	CATGTCCACATAACTACGAAATCC (SEQ ID NO: 34)	TOP2A R
AGCAGTTGGAGCTGTGGTTT (SEQ ID NO: 13)	RUSC1 F	CAAGCAGCTTTCAGATGGAAT (SEQ ID NO: 35)	NUF2 F
ATCCTGTTGGCAGGTACAGG (SEQ ID NO: 14)	RUSC1 R	GAATTTCCCTCTTGCAGCAC (SEQ ID NO: 36)	NUF2 R
AAGCAGATGGAGCGTGCTAT (SEQ ID NO: 15)	MSN F	AGAGAGGCCTGGCTCTGG (SEQ ID NO: 37)	MCM2 F
CCTACGGGTCTGTTCTTCCA (SEQ ID NO: 16)	MSN R	CACCACGTACCTTGTGCTTG (SEQ ID NO: 38)	MCM2 R
AGTGCGCATGGAGTTTGTTC (SEQ ID NO: 17)	NUP93 F	CAGAAGAAGAAAGAAAAATTGGAGA (SEQ ID NO: 39)	HELLS F
TGCAAATTTCCAAAGACAGTCA (SEQ ID NO: 18)	NUP93 R	TGGCTTCTCTTCACTTGCAT (SEQ ID NO: 40)	HELLS R
TCGCACCTTACTCTGTTGAATA (SEQ ID NO: 19)	PRKDC F	GGAGTTATACCCAGGGCAAT (SEQ ID NO: 41)	CENPE F
CCAGGGCTGGAATTTTACAT (SEQ ID NO: 20)	PRKDC R	CACGTAAGAGAAATTCCTATCA (SEQ ID NO: 42)	CENPE R
GGTCAGACAGCCAGATGTTT (SEQ ID NO: 21)	KIF4A F	GATCAGCAGGACACCCAGAT (SEQ ID NO: 43)	MCM3 F
GCTCTTCTAGCTTGGCGTTTC (SEQ ID NO: 22)	KIF4A R	TGCTGCACTCACCATCTTCT (SEQ ID NO: 44)	MCM3 R
CGAAAGCATCCTTCATCTCC (SEQ ID NO: 23)	TPX2 F	GAACCACCAAAGTTACCACGA (SEQ ID NO: 45)	RBL1 F
TCCTTGGGACAGGTTGAAAG (SEQ ID NO: 24)	TPX2 R	TCCAACAGAAATTAACAGATCCTT (SEQ ID NO: 46)	RBL1 R

GGTCAGACAGCCCAGATG TT (SEQ ID NO: 25)	KIF4A F	GCAAAAACGAAAGCAACTGG (SEQ ID NO: 47)	NONO F
GCTCTTCTAGCTTGGCGTT C (SEQ ID NO: 26)	KIF4A R	CGCATCATTTCTTCTTGCTG (SEQ ID NO: 48)	NONO R
ATGAGAAACCTGAATCCA GAAG (SEQ ID NO: 27)	MCM4 F	ATCGAGCGAACGCTTTACTT (SEQ ID NO: 49)	POLA1 F
ATCAGCTGGGATGTCCTG AT (SEQ ID NO: 28)	MCM4 R	TTCCTGTTTCTTTCCCGTA (SEQ ID NO: 50)	POLA1 R
GCGTCACTGGTATTTTCTT GC (SEQ ID NO: 29)	MCM7 F	GACGCGAGAACTTCCAGAAC (SEQ ID NO: 51)	TAGLN2 F
ATGGGCTTCCAGGTAGGT TT (SEQ ID NO: 30)	MCM7 R	CCTCGGGGTACAGTGCATTA (SEQ ID NO: 52)	TAGLN2 R

[00330] Исследование секвенирования ChIP. Эксперименты по секвенированию ChIP в линиях клеток DF15, MM1.S и AMO1 проводили с помощью стандартных способов.

5 **[00331] Проточная цитометрия.** Конъюгированное с Alexa Fluor 488 антитело к аннексину V (Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) и To-Pro-3 (Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) применяли в соответствии с протоколом производителя и обрабатывали с применением программного обеспечения Flow Jo в течение по меньшей мере трех независимых экспериментов. Для анализа клеточного
10 цикла клетки окрашивали с помощью набора для окрашивания PI (Abscam, Кембридж, Массачусетс, США), и анализ выполняли с помощью программного обеспечения Flow Jo V10.

[00332] Конфокальная визуализация. Клетки культивировали на предметных стеклах с камерами и фиксировали пермеабиллизированными для микроскопии. Клетки
15 инкубировали с первичными антителами, нацеленными на CKS1B, E2F2, KI67-FITC, в 1 x внутриклеточном буфере для окрашивания в течение 2 часов в холодной комнате. Затем клетки окрашивали конъюгированными с Alexa Fluor 488 и 594 вторичными антителами в течение 30 минут при к. т. для CKS1B и E2F2, промывали и
20 контрокрашивали с помощью DAPI. Конфокальные изображения получали с помощью Nikon A1R (Мелвилл, Нью-Йорк, США).

[00333] Нокдаун shRNA. Индуцируемые доксициклином (DOX) конструкции shRNA, нацеленные на CKS1B, E2F2 и BRD4, создавали с помощью Collecta (Маунтин-Вью, Калифорния, США) с применением плазмиды pRSITEP-U6Tet-(sh)-EF1-TetRep-2A-Puro. Отрицательный контроль люциферазы создавали, как описано ранее (PMID:
25 21189262). Вкратце, клетки 293T подвергали совместной трансфекции с помощью смеси плазмид для упаковывания лентивирусов (Collecta, кат. № CPCP-K2A) и

конструкций pRSITEP-shRNA. Вирусные частицы собирали через 48 часов после трансфекции и затем концентрировали в 10 раз с помощью центрифужных фильтров Amicon Ultra-15. Для инфекций клетки инкубировали в течение ночи с концентрированными образцами надосадочной жидкости, содержащей вирусные частицы, в присутствии 8 мкг/мл полибрена. Затем клетки промывали с удалением полибрена. Через 48 часов после инфицирования клетки отбирали с помощью пурамицина (1 мкг/мл) в течение более чем 3 недель до экспериментов.

Последовательности shRNA-мишени представляли собой CKS1B shRNA1: 5'

GACCCACAGCCTAAGCTGAGT 3' (SEQ ID NO: 53); E2F2 shRNA2: 5'

10 GTACGGGTGAGGAGTGGATAA 3' (SEQ ID NO: 54), BRD4 shRNA1: 5'

GACGTGGGAGGAAAGAAACAG 3' (SEQ ID NO: 55), BRD4 shRNA2: 5'

GTGCTGACGTCCGATTGATGT 3' (SEQ ID NO: 56), BRD4 shRNA3: 5'

CGCAAGCTCCAGGATGTGTTC 3' (SEQ ID NO: 57), BRD4 shRNA4: 5'

GCTCCTCTGACAGCGAAGACT 3' (SEQ ID NO: 58).

15 **[00334] Результаты.**

[00335] Экспрессия MR в MDMS8-подобных клетках. Идентификация MR предоставила возможность изучить их роль в биологии MM высокого риска. Оценку обогащения, основанную на сигнатуре гена MDMS8 на панели линий клеток миеломы, проводили для того, чтобы сделать вывод об активации этой сигнатуры в образцах.

20 Этот подход идентифицировал различные линии клеток, которые демонстрировали значительную ассоциацию с фенотипом GE MDMS8. Одну MDMS8-подобную клеточную линию (DF15PR) и отличную от MDMS8-подобной клеточную линию (MM1.S) выбирали в качестве контролей для дополнительных функциональных экспериментов. Эксперименты на основе qRT-PCR и вестерн-блоттинга показали, что
25 два MR (E2F2 и CKS1B) и последующие гены (в том числе TOP2A и NUF2) приводили к повышению уровней экспрессии белка и транскриптов в MDMS8-подобной линии клеток по сравнению с контрольной линией клеток (**фигура 8A** и **фигура 8B**). CKS1B и E2F2 показали значительную корреляцию с экспрессией их генов-мишеней, NUF2 и TOP2A в MGP (данные не показаны). MDMS8-подобные клетки пролиферировали
30 быстрее и характеризовались средним временем удвоения, составляющим примерно $12,55 \pm 0,8$ часов в сравнении с $17,6 \pm 2,2$ часов ($P < 0,05$) в контрольной линии клеток. В асинхронной культуре клеток анализ распределения стадий клеточного цикла между MDMS8-подобной и контрольной линией клеток показал повышенный процент клеток

в S1 (16,9% и 8,14%) и G2/M (23,5% и 17%) с сопутствующим снижением фракции sub-G1 (1,1% и 7,7%) соответственно, демонстрируя гиперпролиферативное поведение.

[00336] Фенотип MDMS8 GE на уровне отдельных клеток. Для

дополнительного понимания фенотипа высокого риска и функции профилирования

5 экспрессии генов отдельных клеток MR применяли исследование того, экспрессируются ли регулоны MR MDMS8 глобально или в подмножестве опухолевых клеток. Как для контрольной, так и для MDMS8-подобной линии клеток анализ транскрипции проводили с применением 10X платформы для экспрессии генов отдельных клеток. Проверяли асинхронно выращенный контроль и клеточную линию

10 MDMS8 с последующим анализом регулонов E2F2 и CKS1B и сигнатурной активности GE MDMS8 в каждой клетке. Графики tSNE (данные не показаны) показали клетки, обогащенные сигнатурой MDMS8, и этот анализ продемонстрировал, что не все клетки в MDMS8-подобной линии клеток были положительными по этому фенотипу, предполагая, что активность MR была ограничена долей общей популяции клеток.

15 Активные клетки (с фенотипом MDMS8) отбирали на основе эмпирических порогов, и в MDMS8-подобной линии клеток появилось большее их подмножество по сравнению с контрольной (> 40% в сравнении с < 20% соответственно). Эти результаты также показали, что два MR, CKS1B и E2F2, возможно, более важны для контроля профиля клеточного цикла MDMS8-подобных клеток (данные не показаны).

20 **[00337] Прогностическая и функциональная роль CKS1B и E2F2.**

Ассоциацию экспрессии CKS1B и E2F2 с общей выживаемостью и выживаемостью без прогрессирования (OS, PFS) анализировали у пациентов с MGP, и было замечено, что их более высокая экспрессия значительно коррелирует с более низкой OS и PFS

(фигура 9А, фигура 9В, фигура 9С и фигура 9D). Линии клеток с shRNA создавали

25 для проведения исследований нокдауна CKS1B и E2F2. MDMS8-подобные клетки при нокдауне CKS1B и E2F2 продемонстрировали значимое снижение пролиферации и повышение апоптоза (фигура 9Е), что указывает на функциональную роль этих двух MR в жизнеспособности этих клеток.

[00338] Эффекты ингибиторов BRD4 на CKS1B и E2F2 и их гены-мишени.

30 CKS1B и E2F2 включали в перечень генов, ассоциированных с суперэнхансерами (SE) при MM (Loven, J., et al., Cell, 2013, 153(2): p. 320-34). Для фармакологического нацеливания на CKS1B и E2F2 ингибиторы BET JQ1 и соединение А использовали в MDMS8-подобных линиях клеток и линиях H929. Как JQ1, так и соединение А продемонстрировали зависимое от дозы и времени снижение уровней белка CKS1B и

E2F2 (**фигура 10А** и **фигура 10В**). В качестве заместителя активности также снижалась экспрессия белков их генов-мишеней NUF2 и TOP2A, соответственно для CKS1B и E2F2. Ингибиторы BET также способствовали снижению уровней субстратов цереблona, Ikaros, Aiolos и c-Myc. Кроме того, наблюдали повышение уровня P27, который является отрицательным регулятором передачи сигнала CKS1B.

Иммунофлуоресцентное окрашивание выполняли для анализа локализации и экспрессии CKS1B и E2F2 в ответ на JQ1 и подтверждали снижение их ядерной экспрессии в MDMS8-подобных клетках (данные не показаны). Поскольку ингибиторы BET опосредуют свои изменения в основном на уровне транскриптов, уровни транскриптов CKS1B и E2F2 анализировали в ответ на ингибиторы BET. Как в MDMS8-подобных, так и в линиях клеток H929 ингибиторы BET способствовали снижению уровней транскриптов CKS1B и E2F2 (**фигура 10С**, **фигура 10D**, **фигура 10Е** и **фигура 10F**). Экспрессия NUF2, TOP2A, Ikaros и Aiolos также снижалась на уровне транскриптов в ответ на ингибиторы BET (данные не показаны). Для определения SE-опосредованной регуляции CKS1B и E2F2 использовали ингибиторы CDK7, нацеленные на SE-ассоциированные комплексы в линиях клеток MM. Ингибитор CDK7, THZ1, продемонстрировал значительное снижение пролиферации в нескольких линиях клеток MM посредством снижения экспрессии CKS1B, E2F2, Myc, Aiolos и Ikaros (данные не представлены).

20 **[00339] Связывание BRD4 с SE-ассоциированными областями на CKS1B и E2F2.** С применением данных BRD4-ChIP-Seq в линиях клеток AMO1 и MM1.S анализировали связывание BRD4 с SE-ассоциированными областями на CKS1B и E2F2. Наблюдали устойчивое связывание BRD4 с SE-ассоциированными областями на CKS1B и E2F2, и в ответ на JQ1 связывание устранялось в обеих линиях клеток

25 (данные не показаны).

[00340] Эффекты нокдауна BRD4 на экспрессию CKS1B и E2F2. Создавали индуцируемые доксициклином линии клеток с нокдауном по BRD4 на фоне K12PE и MDMS8-подобных клеток. Четыре разных shRNA, нацеленных на BRD4, в этих двух линиях клеток неизменно демонстрировали снижение уровней CKS1B и E2F2 (**фигура**

30 **11А**, **фигура 11В**). Нокдаун BRD4 также приводил к снижению уровней Aiolos, Ikaros и c-Myc, что согласуется с данными об ингибиторах BRD4. Также анализировали изменения клеточной пролиферации, апоптоза и клеточного цикла в ответ на нокдаун BRD4. Все четыре shRNA в K12PE- и MDMS8-подобных клетках вызывали заметное снижение клеточной пролиферации (**фигура 11С**, **фигура 11D**). В результате нокдауна

анализы апоптоза и клеточного цикла показали увеличение апоптоза и уменьшение доли клеток в G2-M и увеличение в sub-G1 фазах клеточного цикла (данные не показаны).

[00341] Ингибирование BRD4 в линиях клеток MM с амплифицированным

5 **1q.** CKS1B локализуется на 1q 21,3, и амплификация 1q предусматривает сегмент высокого риска при MM. Проводили анализ активности ингибирования BRD4 в нескольких линиях клеток 1q, несущих амплификацию 1q (U266, MM1.S, MDMS8-подобный, H929, KMS11), по сравнению с клеточной линией без амплифицированного 1q (MC-CAR). Как показано в таблице ниже, ингибиторы BRD4 были в два-пять раз
10 более активными в линиях клеток с амплифицированным 1q по сравнению с клеточной линией без амплифицированного 1q.

Клеточные линии MM	Клеточные линии с амплифицированным 1q	IC ₅₀ JQ1 (мкМ)	IC ₅₀ соединения A (мкМ)
McCAR	норма	0,08352	0,09344
U266	3x	0,01482	0,03394
MM1.S	3x	0,01521	0,02815
DF15/PR	3x	0,03782	0,03589
H929	3-4x	0,05167	0,05407
KMS11	6-8x	0,03618	0,04035

[00342] Эффекты помалидомида (Pom) на CKS1B и E2F2 в чувствительных

и устойчивых к Pom линиях клеток. Сообщается, что CKS1B и E2F2 участвуют в
15 клеточном цикле в основном посредством регуляции сигнальных путей P27 и RB-CDK4-CDK6-CCND1 соответственно, и иммуномодулирующие соединения продемонстрировали эффекты клеточного цикла, способствуя остановке G1 в линиях клеток MM. На основании этих сообщений анализировали изменения в CKS1B и E2F2 в ответ на Pom в изогенных чувствительных и устойчивых к Pom линиях клеток EJM и
20 EJM-PR, и было обнаружено, что экспрессия этих двух белков снижалась на уровне транскрипции только в чувствительных к Pom клетках (**фигура 12**). Поскольку Aiolos не подвергался расщеплению в линии клеток EJM-PR, что согласуется с отсутствием снижения экспрессии CKS1B и E2F2, анализировали связывание Aiolos с сайтами инициации транскрипции (TSS) CKS1B и E2F2. Данные секвенирования ChIP в линии
25 клеток DF15 показали связывание Aiolos на TSS CKS1B и E2F2 с меткой активации H3K27Ac (подтверждающие данные на основе линии клеток GM12878 из проекта Encode), что позволяет предположить роль этих двух белков ниже от Aiolos (данные не показаны). Анализировали эффекты ингибиторов BRD4 на четыре пары изогенных

чувствительных и устойчивых к Rom линий клеток (K12PE, K12PE-PR, AMO1, AMO1-PR, H929, H929-PR, DF15, DF15-PR) и показали, что независимо от их устойчивости к Rom, эти линии клеток были одинаково чувствительны к ингибиторам BRD4 (данные не показаны).

5 **[00343] Комбинаторная активность ингибитора BRD4 и антипролиферативных соединений.** На основе активности ингибиторов BRD4 и Rom на субстратах CKS1B, E2F2 и цереблona, исследовали изменения пролиферации при комбинировании ингибитора BRD4 с соединениями. JQ1 показал дозозависимое
10 снижение пролиферации в комбинации с Len, Rom, соединением 5 и соединением 6 (**фигура 13А, фигура 13С, фигура 13Е, фигура 13G**) в клетках K12PE. Анализ синергизма с применением программного обеспечения Calcsyn показал, что комбинированная обработка была синергичной при нескольких концентрациях JQ1 и соединения 5 и соединения 6 (**фигура 13В, фигура 13D, фигура 13F, фигура 13Н**). Комбинация также синергически снижала пролиферацию в устойчивой к Rom линии
15 клеток K12PE-PR (**фигура 13I – фигура 13P**). Анализировали изменения в передаче сигнала в ответ на комбинированную обработку ингибитором BRD4 с Len, Rom, соединением 5 и соединением 6. Комбинация JQ1 с Len, Rom, соединением 5 и соединением 6 вызывала более выраженное снижение уровней Aiolos, Ikaros, CKS1B, E2F2, Мус, сурвивина и более высокое повышение уровня расщепленной каспазы 3
20 при комбинированной обработке по сравнению с различными средствами монотерапии (**фигура 13Q**). Кроме того, анализы клеточного цикла и апоптоза подтвердили более значимое снижение G2-M и повышение апоптоза при комбинированной обработке ингибитором BRD4 с Len, Rom, соединением 5 и соединением 6 по сравнению с различными средствами монотерапии (данные не показаны).

25 **Пример 3 Ингибирование НЕК2 снижает пролиферацию клеток в линиях клеток множественной миеломы**

[00344] Линии клеток. Клеточные линии, применяемые в этом исследовании, представляют собой AMO1, H929, K12PE, MMIS, приобретенные в ATCC, США. Клетки культивировали в среде RPMI 1640 с добавлением L-глутамина, пирувата
30 натрия, фетальной бычьей сыворотки, пенициллина и стрептомицина (все от Invitrogen). Устойчивые к помалидомиду линии клеток AMO1, H929, K12PE, MMIS создавали, как описано ранее (Bjorklund et al., *J Biol Chem.* 2011, 286(13):11009-11020).

[00345] Ингибиторы НЕК 2. Применяли два ингибитора НЕК2: необратимый ингибитор JH295 и обратимый ингибитор гас-ССТ 250863 (Tocris Bioscience). Как

JH295, так и гас-ССТ 250863 являются селективными ингибиторами NEK2 и оказывают незначительный эффект на другие киназы, в том числе Cdk1 и Aurora B. Кроме того, JH295 и гас-ССТ 250863 не оказывают эффект на PLK1, сборку биполярного веретена или контрольную точку сборки веретена. (Henise et al., *J Med Chem.* 2011, 54(12):4133-4146; Innocenti et al., *J Med Chem.* 2012, 55(7):3228-3241).

[00346] Антитела. В этом примере антитела применяли для иммуноблоттинга и проточной цитометрии. Применяемые антитела представляют собой NEK2 (Santa Cruz Biotechnologies, кат. № 55601), Aiolos (Cell Signaling Technologies, кат. № 15103), Ikaros (Cell Signaling Technologies, кат. № 14859), ZFP91 (антитело собственного производства), GAPDH (Cell Signaling Technologies, кат. № 2118).

[00347] Конфокальная визуализация. Клетки культивировали на предметных стеклах с камерами и фиксировали пермеабиллизированными для микроскопии. Клетки инкубировали с первичными антителами, специфическими к NEK2, в 1 х внутриклеточном буфере для окрашивания в течение 2 часов в холодной комнате.

Затем клетки окрашивали конъюгированными с Alexa Fluor 488 вторичными антителами в течение 30 минут при к. т., промывали и контрокрашивали DAPI. Конфокальные изображения получали с помощью Nikon A1R (Мелвилл, Нью-Йорк, США).

[00348] Анализы пролиферации и жизнеспособности. Кривые роста клеток определяли посредством мониторинга жизнеспособности клеток с исключением трипанового синего на Vi-Cell-XR (Becton Dickinson, Франклин Лейкс, Нью-Джерси, США). Линии клеток высевали в трех повторностях в 96-луночные круглодонные планшеты с указанными концентрациями лекарственного средства или клетками с нокдауном. Анализы пролиферации выполняли в трех повторностях по меньшей мере три раза ($n = 3$) с применением либо реагента соли тетразолия WST-1 (Roche Applied Science), применяемого в соответствии со спецификациями производителя, либо посредством включения (ЗН)-тимидина, как описано ранее (Bjorklund et al., *Blood Cancer Journal* 5, e354, 2015). Все данные наносили на график и анализировали с применением программного обеспечения GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Ла-Хойя, Калифорния, США), представленные в виде среднего значения с ошибкой, определенной как \pm с.отк.

[00349] Иммуноблоттинг. Иммуноблоттинговый анализ проводили, как предложено, с применением наборов WES (Protein Simple, Сан-Хосе, Калифорния, США) по меньшей мере два раза каждый ($n \geq 2$), где показан лучший представитель.

[00350] Проточная цитометрия. Конъюгированное с Alexa Fluor 488 антитело к аннексину V (Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) и To-Pro-3 (Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) применяли в соответствии с протоколом производителя и обрабатывали, как описано ранее, с помощью программного обеспечения Flow Jo в течение по меньшей мере трех независимых экспериментов. Для анализа клеточного цикла клетки окрашивали с помощью набора для окрашивания на основе йодида пропидия (PI) (Abscam, Кембридж, Массачусетс, США), и анализ выполняли с помощью программного обеспечения Flow Jo V10.

[00351] Бипараметрический анализ для определения клеточного цикла и апоптоза. Анализ жизнеспособности клеток с помощью аннексина V-FITC и йодида пропидия проводили в соответствии с опубликованным циклом протоколов (Rieger et al., *J Vis Exp.* 2011, (50):2597; Léonce et al., *Mol Pharmacol.* 2001, 60(6):1383-1391).

[00352] Результаты.

[00353] Активация NEK2 ассоциирована с высоким риском заболевания и рецидива у пациентов с ММ. Создавали молекулярную классификацию впервые диагностированной множественной миеломы (ndMM), которая классифицировала ndMM на 12 различных молекулярно определяемых сегментов заболевания (MDMS 1-12). Этот интегративный анализ идентифицировал сегмент 8 заболевания с молекулярным определением (MDMS8) в виде кластера высокого риска с наихудшим клиническим исходом. Дополнительный анализ MDMS8 выявил повышенную экспрессию нескольких генов хромосомной нестабильности (CIN). Аберрантную экспрессию одного конкретного гена CIN, NEK2, обнаруживали у приблизительно 10% популяции с ndMM. Более высокая экспрессия NEK2 была в значительной степени ассоциирована с более низкой выживаемостью без прогрессирования и общей выживаемостью (P-значение $1,733 \times 10^{-5}$ и $1,365 \times 10^{-3}$ соответственно) (**фигура 14А, фигура 14В**). Экспрессию NEK2 оценивали в 12 парных образцах из исследования на основе леналидомида. Экспрессию Nek2 измеряли в образцах лиц, ранее не получавших лечения, и в образцах лиц с рецидивом с применением РНК-секвенирования, и было обнаружено, что экспрессия NEK2 значительно повышается при рецидиве заболевания (FDR < 0,0001, **фигура 14С**). Ранее сообщалось, что повышенная экспрессия NEK2 ассоциирована с устойчивостью к лекарственным средствам и рецидивом (Zhou et al., *Cancer Cell* 23(1), p48-62, 2013). Для дополнительного подтверждения этого создавали устойчивые к помалидомиду линии клеток MM1S, DF15 и U266 в результате продолжительного воздействия

лекарственного средства. Анализ РНК-секвенирования пар изогенных чувствительных к лекарственным средствам и устойчивых к лекарственным средствам линий клеток показал значительную активацию экспрессии NEK2 в устойчивых к лекарственным средствам линиях клеток по сравнению с аналогами, чувствительными к лекарственным средствам (**фигура 14D**). Иммуноцитохимический анализ в комбинации с конфокальной микроскопией также показал повышенную экспрессию NEK2 в ядре устойчивой линии клеток миеломы по сравнению с исходной линией клеток (данные не показаны). Эти результаты показывают, что повышенная экспрессия NEK2 ассоциирована с неблагоприятным прогнозом, приобретенной устойчивостью к лекарственным средствам и рецидивом заболевания.

[00354] Для дополнительного подтверждения ассоциации между повышенной экспрессией NEK2 и неблагоприятной выживаемостью проводили анализ Каплана-Мейера в дополнительных наборах данных по миеломе: совокупности данных впервые диагностированных лиц MMRF, впервые диагностированных лиц DFCI и лиц с рефрактерным рецидивом MM0010. Повышенная экспрессия NEK2 была в значительной степени ассоциирована с неблагоприятной PFS (**фигура 15A** и **фигура 15E**; P-значение $< 6,4e^{-06}$ и 0,0027, в ND MMRF и MM0010 соответственно), и OS (**фигура 15B** и **фигура 15F**; P-значение $< 0,0058$ и 0,00033, в ND MMRF и MM0010 соответственно) в наборах данных впервые диагностированных лиц MMRF и лиц с рефрактерным рецидивом MM0010. Повышенная экспрессия NEK2 также показывает неблагоприятную PFS и OS в наборах данных DFCI, но это не было статистически значимым (**фигура 15C** и **фигура 15D**).

[00355] **Ингибирование NEK2 снижает пролиферацию клеток в линиях клеток MM.** Для проверки функциональной роли NEK в биологии миеломы анализировали влияние химического ингибирования NEK2 на пролиферацию клеток MM в присутствии необратимого ингибитора JH295 (Henise et al., *J Med Chem.* 2011, 54(12):4133-4146) и обратимого ингибитора Rac-CCT 250863 (Innocenti et al., *J Med Chem.* 2012, 55(7):3228-3241). Наблюдали значительный антипролиферативный эффект ингибирования NEK2 на линиях клеток множественной миеломы (H929, AMO1, K12PE и MC-CAR). Концентрации IC₅₀ JH295 составляли 0,37 мкМ, 0,48 мкМ, 4 мкМ и 0,56 мкМ соответственно для линий клеток H929, AMO1 K12PE и MC-CAR в сутки 3 после обработки. Концентрации IC₅₀ Rac-CCT 250863 составляли 8,0 мкМ, 7,1 мкМ и 8,7 мкМ соответственно для линий клеток H929, AMO1 и K12PE в сутки 3 после обработки.

[00356] Ингибиторы NEK2 снижали пролиферацию как в чувствительных, так и в устойчивых к помалидомиду линиях клеток. Было обнаружено, что более высокая экспрессия NEK2 ассоциирована с приобретенной устойчивостью к лекарственным средствам (**фигура 14D**). Эффект ингибирования NEK2 в линиях

5 клеток, устойчивых к помалидомиду, оценивали посредством обработки трех изогенных линий клеток, чувствительных и устойчивых к помалидомиду (PR): H929, H929-PR, AMO1, AMO1-PR, K12PE, K12PE-PR, возрастающими концентрациями ингибиторов JH295 и Рас-ССТ 250863. Анализировали эффекты ингибиторов JH295 и Рас-ССТ 250863 в отношении пролиферации. Оба ингибитора NEK2 снижали

10 пролиферацию в чувствительных и устойчивых к помалидомиду линиях клеток. Концентрации IC₅₀ JH295 составляли 0,37 мкМ, 0,27 мкМ, 0,48 мкМ, 0,31 мкМ, 4,00 мкМ и 10,8 мкМ соответственно для линий клеток H929, H929-PR, AMO1, AMO1-PR, K12PE и K12PE-PR. Концентрации IC₅₀ Рас-ССТ 250863 составляли 7,90 мкМ, 5,20 мкМ, 7,00 мкМ, 3,60 мкМ, 8,50 мкМ и 5,17 мкМ соответственно для линий клеток

15 H929, H929-PR, AMO1, AMO1-PR, K12PE и K12PE-PR. JH295 был более эффективным, чем Рас-ССТ 250863 в устойчивых к помалидомиду линиях клеток, и JH295 был более эффективным в отношении снижения пролиферации линий клеток H929-PR и AMO1-PR по сравнению с их исходными аналогами. Это показывает более высокую подверженность линий с устойчивостью к лекарственным средствам к

20 ингибированию NEK2. Более низкие значения IC₅₀ ингибиторов NEK2 в H929 PR и AMO1 PR по сравнению с линиями клеток H929 и AMO1 продемонстрировали повышенную чувствительность к ингибиторам NEK2 в устойчивых линиях клеток, иллюстрируя повышенную зависимость устойчивых к лекарственным средствам линий от экспрессии NEK2.

[00357] Нокдаун NEK2 снижает клеточную пролиферацию чувствительных и устойчивых к лекарственным средствам линий клеток MM. Для изучения влияния нокдауна NEK2 на пролиферацию клеток MM, линии клеток с shRNA NEK2, индуцируемые тетрациклином, создавали посредством отбора с помощью пурамицина в течение двух-трех недель. После индукции доксициклином значительный нокдаун

30 NEK2 наблюдали в трех линиях клеток с shRNA NEK2 как на фоне DF15, так и на фоне DF15-PR, что приводит к значительному снижению пролиферации клеток как в линиях клеток DF15, так и DF15-PR (данные не показаны). Также создавали линии клеток с shRNA NEK2 на фоне AMO1 и AMO1-PR, и при индукции в этих двух линиях клеток наблюдали устойчивое снижение экспрессии белка NEK2 (данные не показаны). Как в

линиях клеток АМО1, так и в линиях клеток АМО1-PR нокдаун NEK2 приводил к снижению пролиферации (данные не показаны). Эти результаты указывают на то, что нокдаун NEK2 приводит к снижению пролиферации как чувствительных к лекарственным средствам линий клеток, так и линий клеток с лекарственной устойчивостью.

[00358] Ингибирование NEK2 проявляет значительную синергию с антипролиферативными соединениями. Проводили комбинированные эксперименты с применением ингибиторов JH295 и рас-ССТ 250863 с соединением 5 и соединением 6. Пять концентраций (0,016, 0,08, 0,4, 2 и 10 мкМ) JH295 и Рас-ССТ 250863 комбинировали с возрастающими концентрациями соединения 5 и соединения 6, и активность комбинации изучали в линиях клеток АМО1 и АМО1-PR. В обеих линиях клеток комбинации JH295 и Рас-ССТ 250863 с соединением 5 и соединением 6 вызывали зависимое от концентрации снижение пролиферации (**фигуры 16А, 16С, 16Е, 16G, 16I, 16К, 16М и 16О**). Синергизм этих комбинированных наборов данных анализировали с применением способа Calcsyn, и обнаружили значительный синергизм между ингибиторами NEK2 (JH295 и рас-ССТ 250863) с соединением 5 и соединением 6 (**фигуры 16В, 16D, 16F, 16H, 16J, 16L, 16N и 16P**). Кроме того, было показано, что комбинации ингибитора NEK2 и соединения 5 и соединения 6 более эффективны против устойчивых к лекарственным средствам линий клеток. Несколько более синергические концентрации NEK2i+ комбинаций соединения 5 и соединения 6 в линиях клеток АМО-PR обнаруживали по сравнению с линиями АМО1. Подобные эксперименты повторяли с клеточными линиями MMS.1, K12PE и K12PE-PR, и наблюдали значительный синергизм между соединением 5 и соединением 6 и ингибиторами NEK2 в линиях клеток MMS.1, K12PE и K12PE-PR (данные не показаны).

[00359] Для дополнительного подтверждения синергетического эффекта нокдаун shRNA комбинировали с обработкой либо соединением 5, либо соединением 6. Индуцировали экспрессию контроля и shRNA NEK2 в линиях клеток АМО1 с последующим воздействием на клетки возрастающих концентраций соединения 5 и соединения 6. Результаты измеряли с помощью анализа пролиферации. Клетки с нокдауном NEK2 проявляли более высокую подверженность к обработке соединением 5 и соединением 6. Комбинация нокдауна NEK2 повышала активность соединения 5 в 5 раз ($IC_{50} = 0,1053$ мкМ для соединения 5 в контрольных клетках по сравнению с $IC_{50} = 0,01870$ мкМ для соединения 5 в клетках с нокдауном NEK2) и соединения 6 в 10 раз

(IC₅₀ = 0,02965 мкМ для соединения 6 в контрольных клетках по сравнению с IC₅₀ = 0,002892 мкМ для соединения 6 в клетках с нокдауном NEK2) по сравнению с контрольной линией клеток с shRNA.

[00360] Для дополнительного подтверждения синергетического эффекта

5 нокдауна NEK2 и комбинации соединения 5 и соединения 6 клетки с нокдауном NEK2 инкубировали с носителем, соединением 5 и соединением 6 и измеряли индукцию апоптоза с помощью окрашивания аннексином V. Значительное увеличение количества апоптотических клеток наблюдали, когда нокдаун NEK2 комбинировали с соединением 5 или соединением 6 (**фигура 17**). Количественная оценка показывает, что нокдаун shRNA NEK2 в комбинации с соединением 5 или соединением 6 приводит к увеличению процента апоптотических клеток в 2-3 раза по сравнению с контролем DMSO.

[00361] **Эффект снижения экспрессии NEK2 на расщепление субстрата, индуцированное соединением 5 и соединением 6.** Т-клетки обрабатывали

15 комбинацией помалидомида, соединения 5 и соединения 6 совместно с различной концентрацией ингибитора NEK2 JH295, и экспрессию белка-субстрата (Ikaros (IKZF1), Aiolos (IKZF3) и ZFP91) анализировали с помощью иммуноблоттинга. Не наблюдали эффекта одного средства, ингибитора NEK2 JH295, на расщепление субстрата по сравнению с контролем DMSO. Аналогично, комбинация помалидомида, соединения 5 и соединения 6 с JH295 не продемонстрировала какого-либо

20 значительного влияния на расщепление субстрата. Также изучали влияние нокдауна NEK2 на опосредованное помалидомидом расщепление субстрата. Контрольные клетки и клетки с shRNA NEK2 инкубировали при различных концентрациях помалидомида. Обработка помалидомидом приводила к разрушению Ikaros (IKZF1),

25 Aiolos (IKZF3) и ZFP91 зависимым от концентрации образом в контрольных линиях с shRNA. Аналогичная картина разрушения субстрата сохранялась в линиях клеток с нокдауном NEK2. Эти эксперименты демонстрируют, что нокдаун NEK2 не оказывает влияния на кинетику разложения субстрата соединения 5, соединения 6 и помалидомида.

30 **[00362]** **Нокдаун NEK2 и комбинация предпочтительно приводят к уничтожению клеток в фазе G1/S клеточного цикла.** Анализировали эффект нокдауна NEK2 на клеточный цикл. Активность NEK2 предпочтительно требуется в фазе G2/M клеточного цикла (Fry et al., *J Cell Sci.* 2012, 125(Pt 19):4423-4433), где он участвует в разделении центросом (Hayward et al., *Cancer Lett* 237:155-166, 2006.;

O'regan et al., *Cell Div.* 2007, 2:25) и присоединении кинетохорных микротрубочек посредством фосфорилирования HEC1 (RandyWei, Bryan Ngo, Guikai Wu, and Wen-Hwa Lee: Phosphorylation of the Ndc80 complex protein, HEC1, by Nek2 kinase modulates chromosome alignment and signaling of the spindle assembly checkpoint. (2011) *Molecular Biology of the Cell* 22:19, 3584-3594). Профиль клеточного цикла контрольных клеток и клеток shRNA NEK2 анализировали с применением окрашивания PI. Одновременно измеряли процент апоптотических клеток посредством окрашивания аннексином V тех же образцов. Наблюдали увеличение количества апоптотических клеток при индукции shRNA NEK2 как в чувствительных к лекарственным средствам линиях клеток, так и в линиях клеток с устойчивостью к лекарственным средствам. Никакого эффекта на профиль клеточного цикла не наблюдали (данные не показаны). Обеспечивали циклическое прохождение клеток с нокдауном NEK2 клеточного цикла без какого-либо накопления клеток в фазе G2/M клеточного цикла. Затем эффект NEK2 на митоз исследовали с применением данных mitochek (<https://www.mitochek.org/>). Сравнение данных экспериментов по нокдауну PLK1 и NEK2 в клетках Hela показало, что нокдаун PLK1 приводит к значительной прометафазной остановке, и клетка подвергается апоптозу после продолжительной митотической остановки, и 100% клеток следуют аналогичному курсу митотической остановки и апоптоза (данные не показаны). Клетка с нокдауном NEK2 продолжает циклически проходить через клеточный цикл и периодически подвергается апоптозу, о чем свидетельствует внезапная индукционная фрагментация ядер после нескольких клеточных циклов. В клетках с нокдауном NEK2 наблюдали три разных фенотипа: фенотип 1: образование анеуплоидных клеток; фенотип 2: после нормального клеточного цикла обе дочерние клетки подвергаются апоптозу в последующем клеточном цикле; фенотип 3: после нормального клеточного цикла только одна дочерняя клетка подвергается апоптозу в последующем клеточном цикле.

[00363] Обработка помалидомидом в комбинации с ингибированием NEK2 приводит к повышению апоптоза. Бипараметрический анализ с помощью аннексина V и йодида пропидия (PI) проводили для анализа клеточного цикла и апоптоза в одном и том же образце, и также для количественной оценки доли клеток, подвергающихся апоптозу на каждой фазе клеточного цикла (Rieger et al., *J Vis Exp.* 2011, (50):2597; Léonce et al., *Mol Pharmacol.* 2001, 60(6):1383-1391). Контрольные линии клеток с shRNA и shRNA NEK2 обрабатывали помалидомидом и следили за клеточным циклом и апоптозом на протяжении двух клеточных циклов. Через 72 часа приблизительно

5,04% клеток в контрольных линиях с shRNA были апоптозными по сравнению с 21,1% апоптозных клеток в линиях клеток с shRNA NEK2. Это показывает усиленный апоптоз, индуцированный помалидомидом, в линиях клеток с shRNA NEK2 по сравнению с контрольными линиями. Анализ клеточного цикла и апоптоза тех же образцов показывает, что большинство апоптозных клеток происходит из фазы G1-S клеточного цикла. Через 96 часов приблизительно 9,5% клеток в контрольных линиях с shRNA и 24,7% линий клеток с shRNA NEK2 были апоптозными, и большинство апоптозных клеток повторно получали из фазы G1-S клеточного цикла. Этот анализ показывает, что антипролиферативные соединения, такие как помалидомид, в основном действуют в фазе G1/S клеточного цикла, и ингибирование NEK2 осуществляется в фазе G2/M клеточного цикла. Комбинация этих двух средств приводит к апоптозу 20-25% клеток в каждом цикле, при этом большинство апоптозных клеток получали из фазы G1/S клеточного цикла. В совокупности результаты показывают, что клетки, обработанные ингибитором NEK2, и клетки, подвергнутые нокдауну, не подвергаются остановке митоза, но со временем они подвергаются накоплению митотических дефектов и, наконец, подвергаются апоптозу из фазы G1/S клеточного цикла вследствие обработки помалидомидом.

Пример 4

[00364] Способы и экспериментальная информация (например, анализы пролиферации, иммуноблотинг и поток для измерения изменений в пролиферации, передаче сигнала и апоптозе) для этого примера аналогичны описанным в примере 1 для других мишеней.

[00365] Ответ на траметиниб коррелирует с уровнем p-ERK-1/2 в линиях клеток ММ независимо от мутационного статуса RAS/RAF. Для анализа взаимосвязи между экспрессией p-ERK-1/2 и активностью траметиниба, проводили анализы пролиферации в нескольких линиях клеток ММ с высокой экспрессией p-ERK-1/2 (U266, H929, AMO1, MC-CAR, KARPAS- 620, KMM-1, KMS-20, MOLP8) и низкой экспрессией p-ERK-1/2 (K12PE, EJM, LP1, DF15, DF15PR, RPMI-8226). Результаты представлены в таблицах ниже. Линии клеток с более высокой экспрессией p-ERK-1/2 были значительно более чувствительны к траметинибу по сравнению с линиями с низкой экспрессией p-ERK-1/2.

SN	Линия клеток	Мутационный статус	Статус p-ERK	IC50 (мкМ) траметиниба
1	U266	BRAF K601N	Высокий	0,000353

2	H929	NRAS G13D	Умеренный	0,003276
3	Amo1	KRAS146T	Высокий	0,001203
4	McCAR	WT	Высокий	0,003103
5	KARPAS-620	KRAS G12G	Высокий	0,000070
6	KMM-1	NRAS G13D	Высокий	0,00169
7	KMS-20	KRAS G12S	Высокий	0,002223
8	MOLP-8	KRAS K180del NRAS p.Q61L	Высокий	0,01169
SN	Линия клеток	Мутационный статус	Статус p-ERK	IC50 (мкМ)
1	K12PE	BRAF (интронный)	Низкий	-
2	EJM	WT	Низкий	-
3	LP-1	WT	Низкий	-
4	DF15	KRAS G12A	Низкий	-
5	DF15 PR	KRAS G12A	Низкий	-
6	RPMI-8226	KRAS G12A	Низкий	-

[00366] Траметиниб проявляет синергизм с иммуномодулирующими соединениями, соединением 5 и соединением 6 как в чувствительных, так и в устойчивых к помалидомиду клетках. Также проводили анализ пролиферации для анализа комбинаторной активности траметиниба с иммуномодулирующими соединениями (Lep и Pom) или соединением 5 или соединением 6 в чувствительных к помалидомиду и устойчивых к помалидомиду линиях клеток AMO1 и AMO1-PR. Результаты показаны на **фигуре 18А – фигуре 18Н**. Эти анализы пролиферации продемонстрировали значительную синергию траметиниба с иммуномодулирующими соединениями, соединением 5 и соединением 6.

[00367] Комбинация траметиниба и соединения 6 синергически снижала передачу сигнала ERK, ETV4 и MYC в линии клеток AMO1-PR. В целях установления механистической основы синергизма между траметинибом и соединением 6 проводили иммуноблоттинг для обнаружения изменений в передаче сигнала p-ERK, ETV4, AIOLOS, IKAROS, IRF4, IRF5, IRF7 и MYC. Результаты показаны на **фигуре 19**. Комбинация траметиниба и соединения 6 продемонстрировала большее снижение уровней p-ERK, ETV4, MYC и IRF4 и повышение уровней генов интерферона IRF5 и IRF7 по сравнению с различными средствами монотерапии.

[00368] Комбинация траметиниба и соединения 6 приводила к увеличению апоптоза в линии клеток AMO1 и AMO1-PR. Эффекты комбинации траметиниба и соединения 6 на апоптоз дополнительно анализировали в сутки 3 и 5 в линиях клеток AMO1 и AMO1-PR. В обеих этих линиях клеток комбинация траметиниба и

соединения 6 показала более высокий апоптоз в сутки 3 (**фигура 20А**) и день 5 (**фигура 20В**) по сравнению с различными средствами монотерапии.

[00369] Комбинация траметиниба и соединения 6 приводила к уменьшению количества клеток в G2-М и S фазе в линиях клеток АМО1 и АМО1-PR. Для анализа ассоциированных с клеточным циклом механизмов синергизма между траметинибом и соединением 6 проводили исследования клеточного цикла в ответ на комбинацию и различные средства монотерапии. Результаты клеточного цикла продемонстрировали более высокое снижение фаз G2-М и S клеточного цикла в ответ на комбинацию по сравнению с различными видами монотерапии в сутки 3 (**фигура 21А**) и сутки 5 (**фигура 21В**).

Пример 5

[00370] Способы и экспериментальная информация (например, анализы пролиферации, иммуноблотинг и поток для измерения изменений в пролиферации, передаче сигналов и апоптозе) для этого примера аналогичны описанным в примере 1 для других мишеней.

[00371] Ингибитор ВIRC5, YM155 снижает пролиферацию как чувствительных, так и устойчивых к Ром линий клеток. Пациенты с ММ в проекте генома миеломы (данные получали на основе исследования Myeloma XI, Dana-Faber Cancer Institute/Intergroupe Francophone du Myelome и исследования CoMMpass Фонда исследования множественной миеломы, о которых сообщалось) с высокой экспрессией ВIRC5 продемонстрировали более низкую PFS (**фигура 22А**) и OS (**фигура 22В**). Обработка линий клеток АМО1, АМО1-PR, К12РЕ, К12РЕ-PR ингибитором ВIRC5 YM155 продемонстрировала более высокую чувствительность у АМО1-PR ($EC_{50} = 0,12 \text{ нМ}$) и К12РЕ-PR ($EC_{50} = 1,07 \text{ нМ}$) к ингибитору ВIRC5 по сравнению с исходными клеточными линиями АМО1 ($EC_{50} = 1,09 \text{ нМ}$) и К12РЕ ($EC_{50} = 1,47 \text{ нМ}$).

[00372] Экспрессия ВIRC5 (сурвивина) снижается в ответ на соединение 5, приводя к позднему апоптозу. Экспрессию ВIRC5 изучали в изогенных линиях клеток, чувствительных и устойчивых к помалидомиду, и несколько линий клеток, устойчивых к помалидомиду, продемонстрировали повышенную экспрессию ВIRC5 (**фигура 23А**). Уровни ВIRC5 снижались в ответ на обработку соединением 5 через 48 и 72 часа с последующим началом апоптоза в линии клеток ММ1.S (**фигура 23В**).

[00373] YM155 и соединение 5 или соединение 6 синергически снижают пролиферацию в чувствительных и устойчивых к помалидомиду линиях клеток. Клеточные линии АМО1 и АМО1-PR обрабатывали возрастающими дозами YM155 и

соединения 5 или соединения 6 и проводили анализы пролиферации. Результаты показаны на **фигуре 24А – фигуре 24Н**. Комбинированный анализ с применением Calcsyn показал синергическую активность YM155 с соединением 5 или соединением 6 как в линиях клеток АМО1, так и в линиях клеток АМО1-PR.

5 **[00374] Нокдаун BIRC5 снижает пролиферацию в линиях клеток MM.**
Разрабатывали индуцируемые доксициклином линии клеток с нокдауном BIRC5. Нокдаун BIRC5 снижал пролиферацию клеток АМО1-PR (**фигура 25А**). Нокдаун BIRC5 также приводил к снижению экспрессии ассоциированного с высоким риском гена FOXM1 (**фигура 25В**).

10 **[00375] Ингибирование BIRC5 с помощью YM155 также снижает экспрессию FOXM1 и передачу сигнала, способствующего выживанию.**
Ассоциированные с высоким риском гены, BIRC5 и FOXM1, продемонстрировали значительную совместную экспрессию в проекте генома миеломы, предполагая их совместную регуляцию (**фигура 26А**). Ингибирование BIRC5 с помощью YM155
15 приводило к снижению экспрессии FOXM1 дозозависимым образом в линиях клеток АМО1-PR и К12РЕ-PR (**фигура 26В**).

[00376] Описанные выше варианты осуществления предназначены только для примера, и специалисты в данной области техники узнают или смогут установить,
20 используя не более чем рутинное экспериментирование, многочисленные эквиваленты конкретных соединений, материалов и процедур. Считается, что все такие эквиваленты входят в объем настоящего изобретения и охватываются прилагаемой формулой изобретения.

[00377] Был процитирован ряд литературных источников, раскрытия которых
25 включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Формула изобретения

1. Способ осуществления лечения рака, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества (S)-3-(4-((4-(морфолинометил)бензил)окси)-1-оксоизоиндолин-2-ил)пиперидин-2,6-диона
5 (соединения 5) или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации со вторым средством, где второе активное средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1, ингибитора BRD4, ингибитора BET, ингибитора NEK2, ингибитора AURKB,
10 ингибитора MEK, ингибитора PHF19, ингибитора BTK, ингибитора mTOR, ингибитора PIM, ингибитора IGF-1R, ингибитора XPO1, ингибитора DOT1L, ингибитора EZH2, ингибитора JAK2, ингибитора BIRC5 или ингибитора ДНК-метилтрансферазы.
2. Способ осуществления лечения рака, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества (S)-4-(4-(4-(((2-(2,6-
15 диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-4-ил)окси)метил)бензил)пиперазин-1-ил)-3-фторбензонитрила (соединения 6) или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации со вторым средством, где второе активное средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1,
20 ингибитора BRD4, ингибитора BET, ингибитора NEK2, ингибитора AURKB, ингибитора MEK, ингибитора PHF19, ингибитора BTK, ингибитора mTOR, ингибитора PIM, ингибитора IGF-1R, ингибитора XPO1, ингибитора DOT1L, ингибитора EZH2, ингибитора JAK2, ингибитора BIRC5 или ингибитора ДНК-метилтрансферазы.
3. Способ осуществления лечения рака, включающий введение пациенту,
25 нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества 4-амино-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)изоиндолин-1,3-диона (соединения 1) или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации со вторым средством, где второе активное средство представляет собой
30 одно или несколько из ингибитора PLK1, ингибитора BRD4, ингибитора BET, ингибитора NEK2, ингибитора AURKB, ингибитора MEK, ингибитора PHF19, ингибитора BTK, ингибитора mTOR, ингибитора PIM, ингибитора IGF-1R, ингибитора XPO1, ингибитора DOT1L, ингибитора EZH2, ингибитора JAK2, ингибитора BIRC5 или ингибитора ДНК-метилтрансферазы.

4. Способ осуществления лечения рака, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества 3-(4-амино-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил)-пиперидин-2,6-диона (соединения 2) или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации со вторым средством, где второе активное средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1, ингибитора BRD4, ингибитора BET, ингибитора NEK2, ингибитора AURKB, ингибитора MEK, ингибитора PHF19, ингибитора BTK, ингибитора mTOR, ингибитора PIM, ингибитора IGF-1R, ингибитора XPO1, ингибитора DOT1L, ингибитора EZH2, ингибитора JAK2, ингибитора BIRC5 или ингибитора ДНК-метилтрансферазы.

5. Способ осуществления лечения рака, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества 2-(2,6-диоксо-3-пиперидинил)-1H-изоиндол-1,3(2H)-диона (соединения 3) или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации со вторым средством, где второе активное средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1, ингибитора BRD4, ингибитора BET, ингибитора NEK2, ингибитора AURKB, ингибитора MEK, ингибитора PHF19, ингибитора BTK, ингибитора mTOR, ингибитора PIM, ингибитора IGF-1R, ингибитора XPO1, ингибитора DOT1L, ингибитора EZH2, ингибитора JAK2, ингибитора BIRC5 или ингибитора ДНК-метилтрансферазы.

6. Способ осуществления лечения рака, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества 3-(5-амино-2-метил-4-оксо-4H-хиназолин-3-ил)-пиперидин-2,6-диона (соединения 4) или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации со вторым средством, где второе активное средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1, ингибитора BRD4, ингибитора BET, ингибитора NEK2, ингибитора AURKB, ингибитора MEK, ингибитора PHF19, ингибитора BTK, ингибитора mTOR, ингибитора PIM, ингибитора IGF-1R, ингибитора XPO1, ингибитора DOT1L, ингибитора EZH2, ингибитора JAK2, ингибитора BIRC5 или ингибитора ДНК-метилтрансферазы.

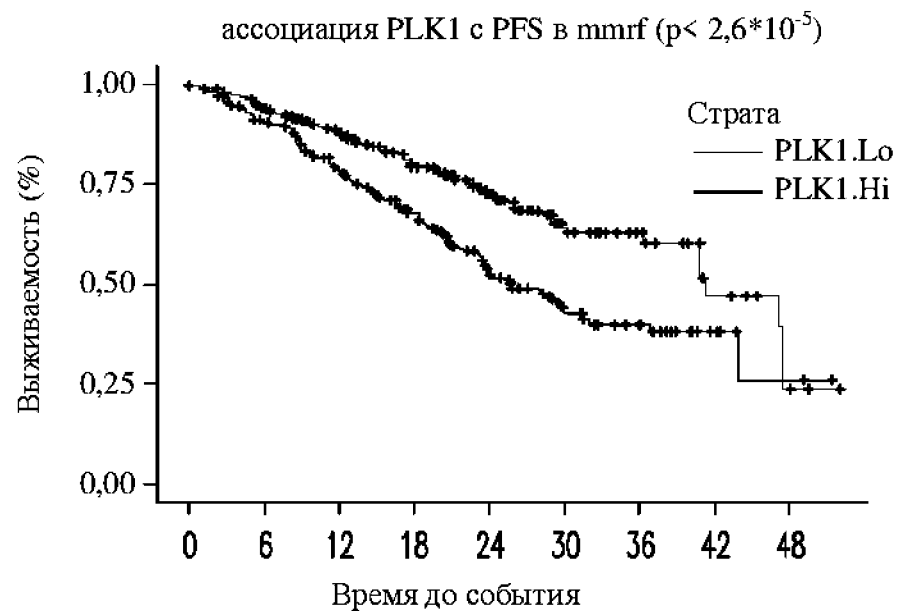
7. Способ осуществления лечения рака, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества 2-(4-хлорфенил)-N-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолин-5-ил)метил)-2,2-дифторацетамида (соединения 7) или его стереоизомера или смеси стереоизомеров, фармацевтически приемлемой соли, таутомера, пролекарства на его основе, сольвата, гидрата, сокристалла, клатрата или полиморфа в комбинации со вторым средством, где второе активное средство представляет собой одно или несколько из ингибитора PLK1, ингибитора BRD4, ингибитора BET, ингибитора NEK2, ингибитора AURKB, ингибитора MEK, ингибитора PHF19, ингибитора BTK, ингибитора mTOR, ингибитора P115, ингибитора IGF-1R, ингибитора XPO1, ингибитора DOT1L, ингибитора EZH2, ингибитора JAK2, ингибитора BIRC5 или ингибитора ДНК-метилтрансферазы.
8. Способ по любому из пп. 1-7, где второе средство представляет собой ингибитор PLK1.
9. Способ по п. 8, где ингибитор PLK1 представляет собой BI2536, воласертиб, CYC140, онвансертиб, GSK461364 или TAK960 или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.
10. Способ по п. 9, где ингибитор PLK1 представляет собой BI2536.
11. Способ по любому из пп. 1-7, где второе средство представляет собой ингибитор BRD4.
12. Способ по п. 11, где ингибитор BRD4 представляет собой JQ1.
13. Способ по любому из пп. 1-7, где второе средство представляет собой ингибитор BET.
14. Способ по п. 13, где ингибитор BET представляет собой бирабресиб, 4-[2-(циклопропилметокси)-5-(метансульфонил)фенил]-2-метилизохинолин-1(2H)-он (соединение A), BMS-986158, RO-6870810, CPI-0610 или молибресиб или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.
15. Способ по любому из пп. 1-7, где второе средство представляет собой ингибитор NEK2.
16. Способ по п. 15, где ингибитор NEK2 представляет собой JH-295.
17. Способ по п. 15, где ингибитор NEK2 представляет собой рас-ССТ 250863.
18. Способ по любому из пп. 1-7, где второе средство представляет собой ингибитор киназы Aurora B (AURKB).

19. Способ по п. 18, где ингибитор AURKB представляет собой барасертиб, AZD1152-HQPA, алисертиб, данусертиб, AT9283, PF-03814735, AMG900, тозасертиб, ZM447439, MLN8054, гесперидин, SNS-314, PHA-680632, CYC116, GSK1070916, TAK-901 или CCT137690, или молибресиб или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.
20. Способ по любому из пп. 1-7, где второе средство представляет собой ингибитор MEK.
21. Способ по п. 20, где ингибитор MEK нарушает функцию каскада передачи сигнала RAF/RAS/MEK.
22. Способ по п. 20, где ингибитор MEK представляет собой траметиниб, траметиниба диметилсульфоксид, кобиметиниб, биниметиниб или селуметиниб или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.
23. Способ по любому из пп. 1-7, где второе средство представляет собой ингибитор RNF19.
24. Способ по любому из пп. 1-7, где второе активное средство представляет собой ингибитор ВТК.
25. Способ по п. 24, где ингибитор ВТК представляет собой ибрутиниб, или акалабрутиниб или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.
26. Способ по любому из пп. 1-7, где второе активное средство представляет собой ингибитор mTOR.
27. Способ по п. 26, где ингибитор mTOR представляет собой рапамицин или его аналог (также называемый рапалог).
28. Способ по п. 26, где ингибитор mTOR представляет собой эверолимус.
29. Способ по любому из пп. 1-7, где второе активное средство представляет собой ингибитор P115.
30. Способ по п. 29, где ингибитор P115 представляет собой LGH-447, AZD1208, SGI-1776 или TP-3654 или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.
31. Способ по любому из пп. 1-7, где второе активное средство представляет собой ингибитор IGF-1R.
32. Способ по п. 31, где ингибитор IGF-1R представляет собой линситиниб.

33. Способ по любому из пп. 1-7, где второе активное средство представляет собой ингибитор XPO1.
34. Способ по п. 33, где ингибитор XPO1 представляет собой селинексор.
35. Способ по любому из пп. 1-7, где второе активное средство представляет собой ингибитор DOT1L.
36. Способ по п. 35, где ингибитор DOT1L представляет собой SGC0946 или пинометостат или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.
37. Способ по любому из пп. 1-7, где второе активное средство представляет собой ингибитор EZH2.
38. Способ по п. 37, где ингибитор EZH2 представляет собой таземетостат, 3-деазанепланоцин А (DZNep), EPZ005687, EI1, GSK126, UNC1999, CPI-1205 или синефунгин или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.
39. Способ по любому из пп. 1-7, где второе активное средство представляет собой ингибитор JAK2.
40. Способ по п. 39, где ингибитор JAK2 представляет собой федратиниб, руксолитиниб, барицитиниб, гандотиниб, лестауртиниб, момелотиниб или пакритиниб или их стереоизомер, смесь стереоизомеров, таутомер, изотополог или фармацевтически приемлемую соль.
41. Способ по любому из пп. 1-7, где второе активное средство представляет собой ингибитор BIRC5.
42. Способ по п. 41, где ингибитор BIRC5 представляет собой YM155.
43. Способ по любому из пп. 1-7, где второе активное средство представляет собой ингибитор ДНК-метилтрансферазы.
44. Способ по п. 43, где ингибитор ДНК-метилтрансферазы представляет собой азациитидин.
45. Способ по любому из пп. 1-44, где рак представляет собой гемобластоз.
46. Способ по любому из пп. 1-44, где рак представляет собой В-клеточное злокачественное новообразование.
47. Способ по любому из пп. 1-44, где рак представляет собой лимфому.
48. Способ по любому из пп. 1-44, где рак представляет собой диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL).

49. Способ по любому из пп. 1-44, где рак представляет собой лимфому из клеток мантийной зоны (MCL).
50. Способ по любому из пп. 1-44, где рак представляет собой лимфому маргинальной зоны (MZL).
- 5 51. Способ по любому из пп. 1-44, где рак представляет собой индолентную фолликулярную клеточную лимфому (iFCL).
52. Способ по любому из пп. 1-44, где рак представляет собой Т-клеточную лимфому.
- 10 53. Способ по любому из пп. 1-44, где рак представляет собой множественную миелому.
54. Способ по п. 53, где множественная миелома является рецидивирующей или рефрактерной.
55. Способ по п. 53, где множественная миелома является рефрактерной в отношении леналидомида.
- 15 56. Способ по п. 53, где множественная миелома представляет собой впервые диагностированную множественную миелому.
57. Способ по п. 53, где множественная миелома является рефрактерной в отношении помалидомида.
58. Способ по п. 57, где множественная миелома является рефрактерной в
20 отношении помалидомида при применении в комбинации с ингибитором протеасом.
59. Способ по п. 58, где ингибитор протеасом выбран из бортезомиба, карфилзомиба и иксазомиба.
60. Способ по п. 57, где множественная миелома является рефрактерной в
25 отношении помалидомида при применении в комбинации с воспалительным стероидом.
61. Способ по п. 60, где воспалительный стероид выбран из дексаметазона или преднизона.
62. Способ по п. 57, где множественная миелома является рефрактерной в
отношении помалидомида при применении в комбинации с моноклональным
30 антителом, направленным на CD38.
63. Способ по любому из пп. 1-62, дополнительно включающий введение пациенту дополнительного активного средства.
64. Способ по п. 63, где третье средство представляет собой стероид.

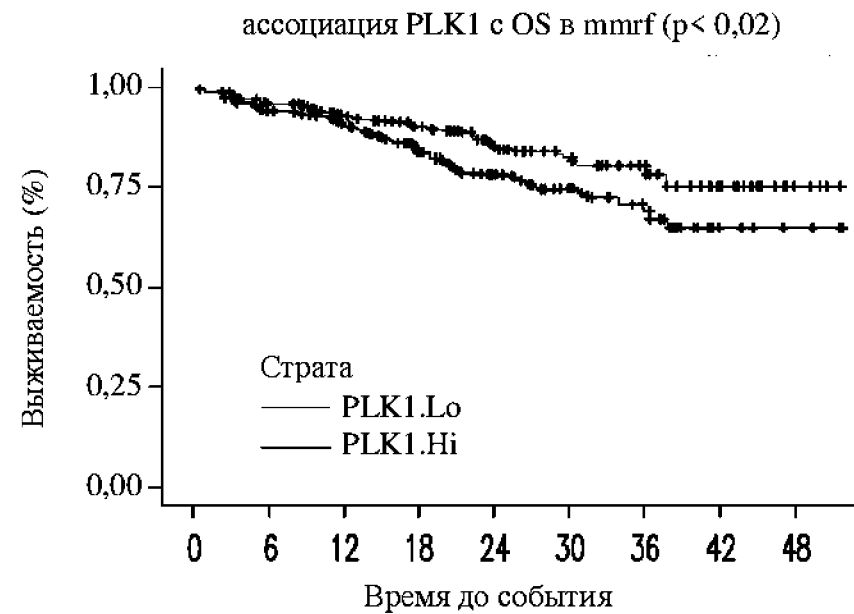
65. Способ выявления субъекта, имеющего гематологический рак, который, вероятно, отвечает на соединение, обеспечивающее лечение, в комбинации со вторым средством, или прогнозирования восприимчивости субъекта, имеющего гематологический рак, в отношении соединения, обеспечивающего лечение, в комбинации со вторым средством, включающий:
- a. получение образца от субъекта;
 - b. определение уровня биомаркера в образце; и
 - c. диагностирование субъекта как, вероятно, отвечающего на соединение, обеспечивающее лечение, в комбинации со вторым средством, если уровень биомаркера представляет собой измененный уровень по сравнению с эталонным уровнем биомаркера.
66. Способ осуществления селективного лечения гематологического рака у субъекта, имеющего гематологический рак, включающий:
- a. получение образца от субъекта;
 - b. определение уровня биомаркера в образце;
 - c. диагностирование субъекта как, вероятно, отвечающего на соединение, обеспечивающее лечение, в комбинации со вторым средством, если уровень биомаркера представляет собой измененный уровень по сравнению с эталонным уровнем биомаркера; и
 - d. введение терапевтически эффективного количества соединения, обеспечивающего лечение, в комбинации со вторым средством субъекту, диагностированному как, вероятно, отвечающий на соединение, обеспечивающее лечение, в комбинации со вторым средством.
67. Способ по п. 65 или п. 66, где биомаркер представляет собой экспрессию гена или комбинации генов, выбранных из BRD4, PLK1, AURKB, PHF19, NEK2, MEK, BTK, MTOR, PIM, IGF-1R, XPO1, DOT1L, EZH2, JAK2 и BIRC5.



PLK1.Lo	309	279	222	160	94	53	26	10	3
PLK1.Hi	321	265	191	130	65	33	22	6	2

Количества подверженных риску

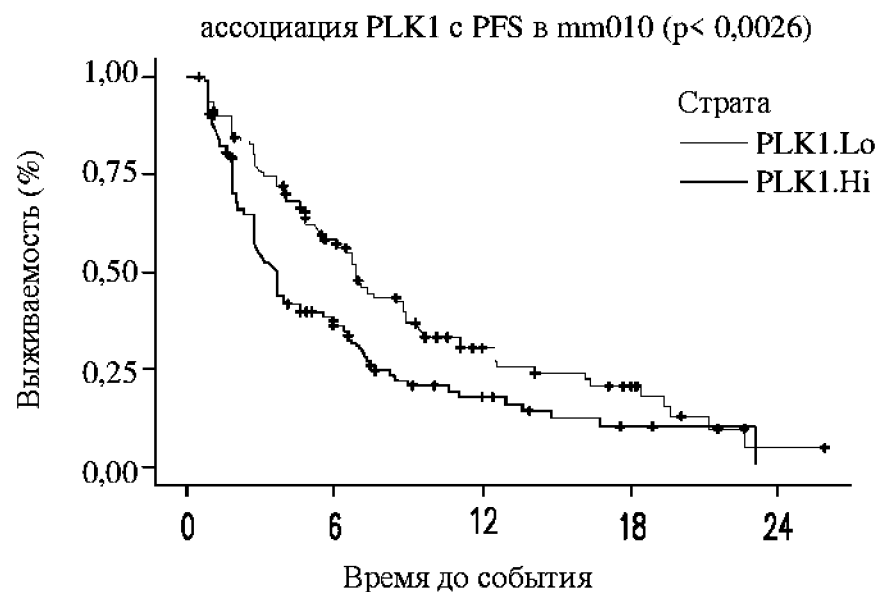
Фигура 1А



PLK1.Lo	309	289	239	106	114	74	38	20	5
PLK1.Hi	321	287	233	109	107	62	40	10	4

Количества подверженных риску

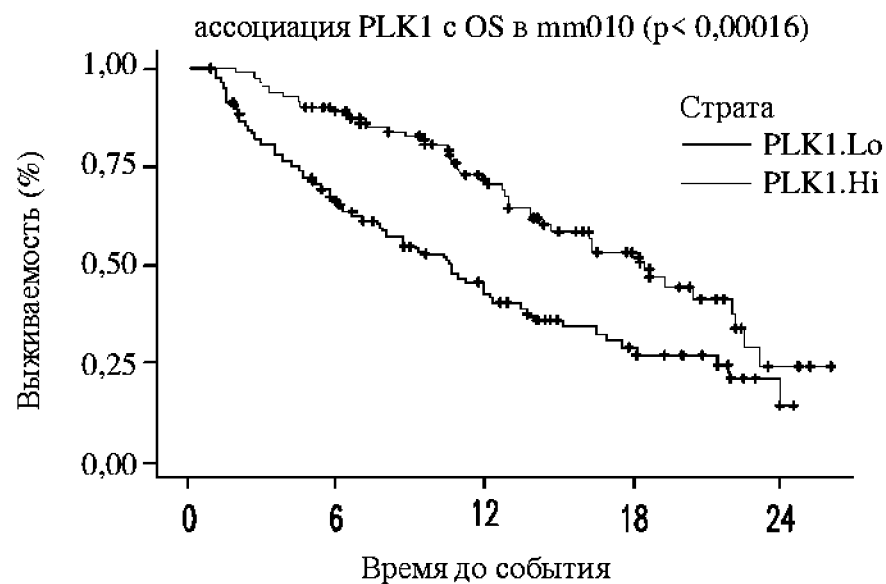
Фигура 1В



PLK1.Lo	111	57	20	10	1
PLK1.Hi	110	34	12	3	0

Количества подверженных риску

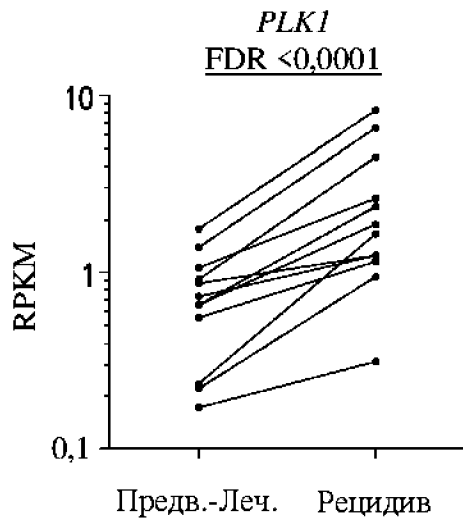
Фигура 1С



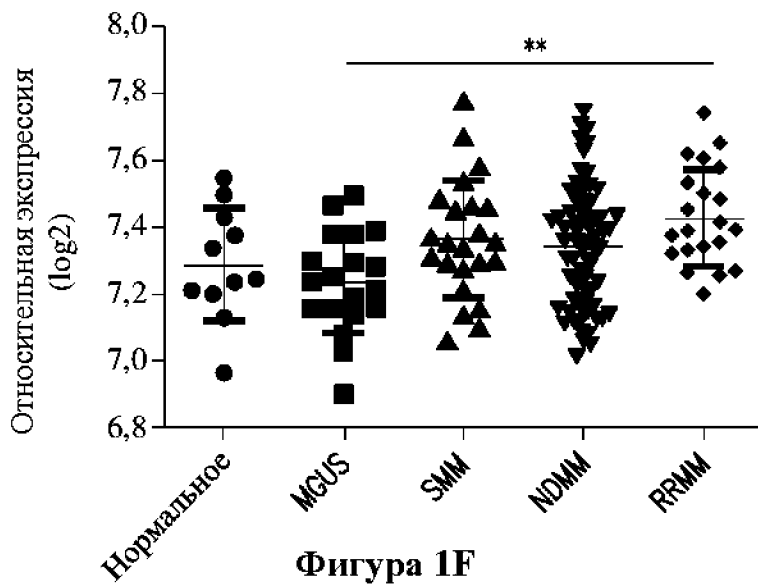
PLK1.Lo	111	89	53	27	3
PLK1.Hi	110	68	34	16	2

Количества подверженных риску

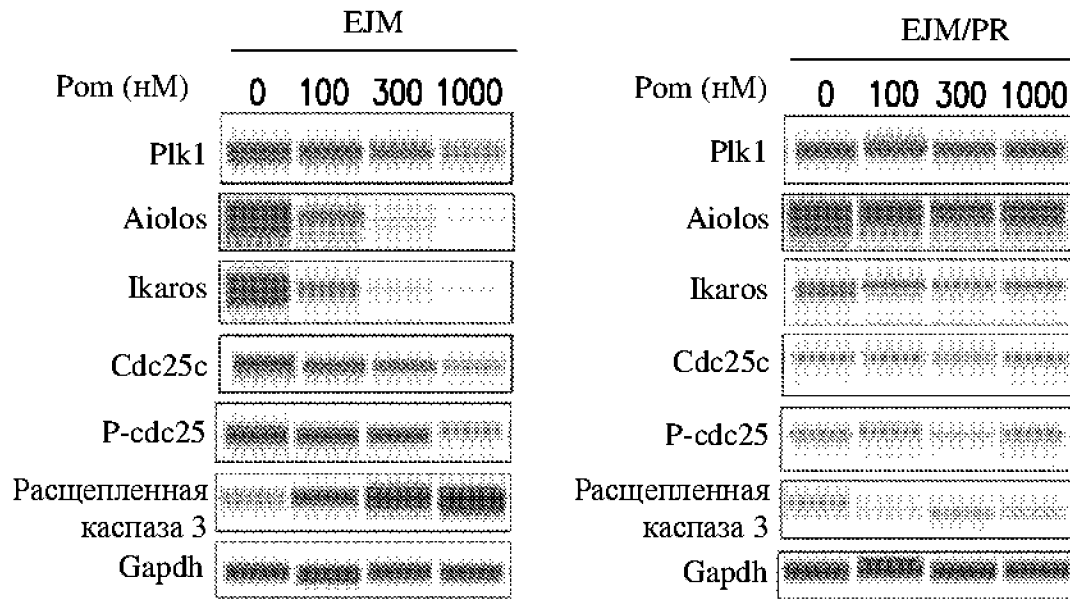
Фигура 1D



Фигура 1E

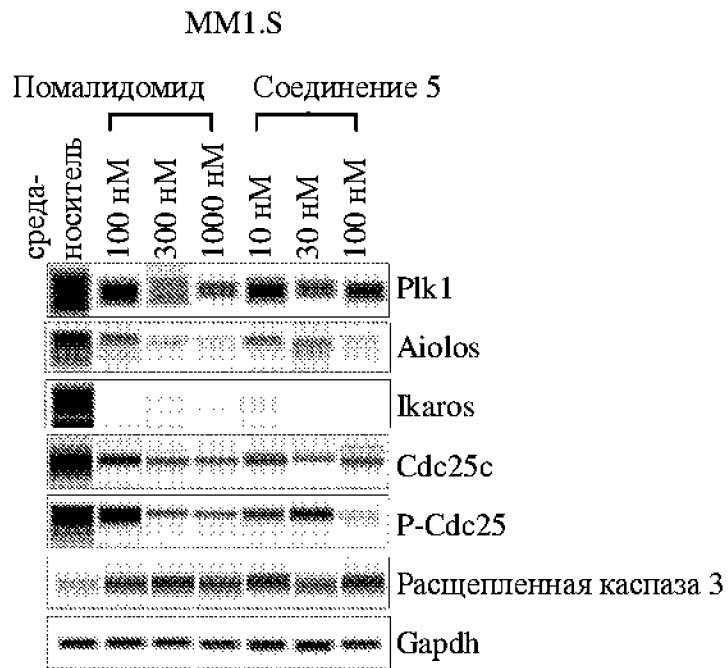


Фигура 1F

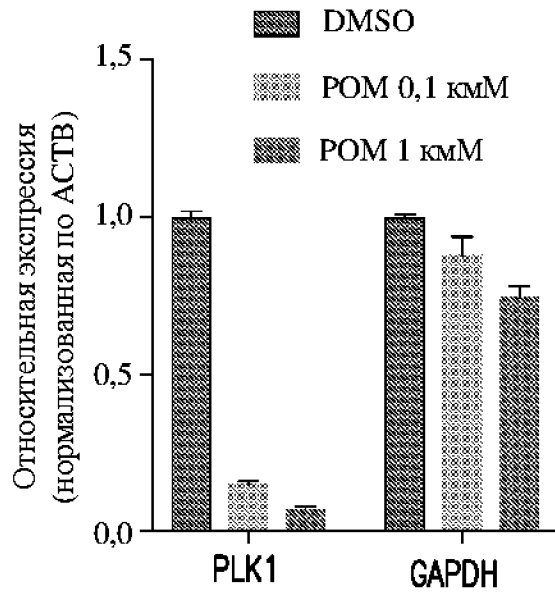


Фигура 2А

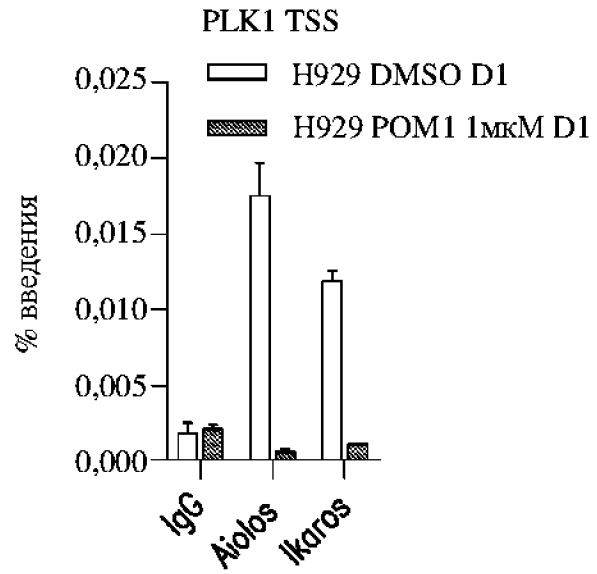
Фигура 2В



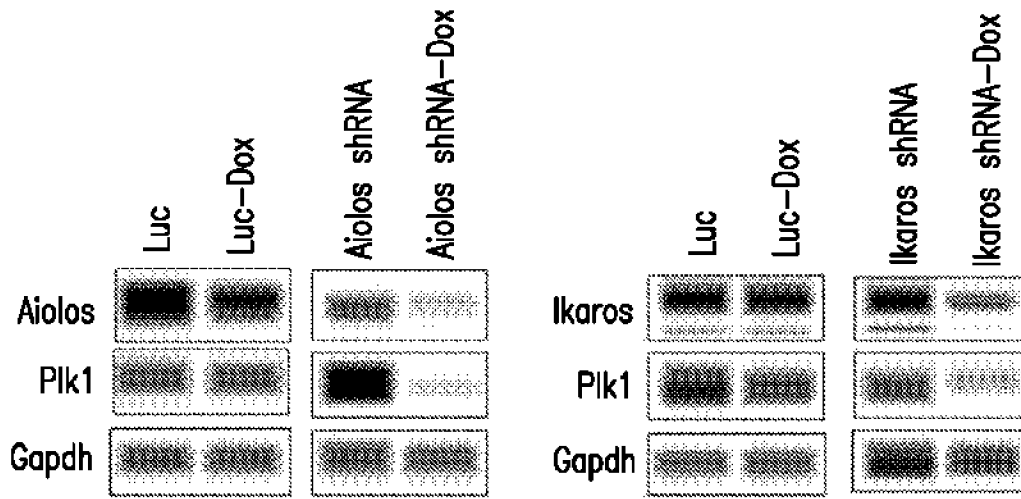
Фигура 2С



Фигура 2D

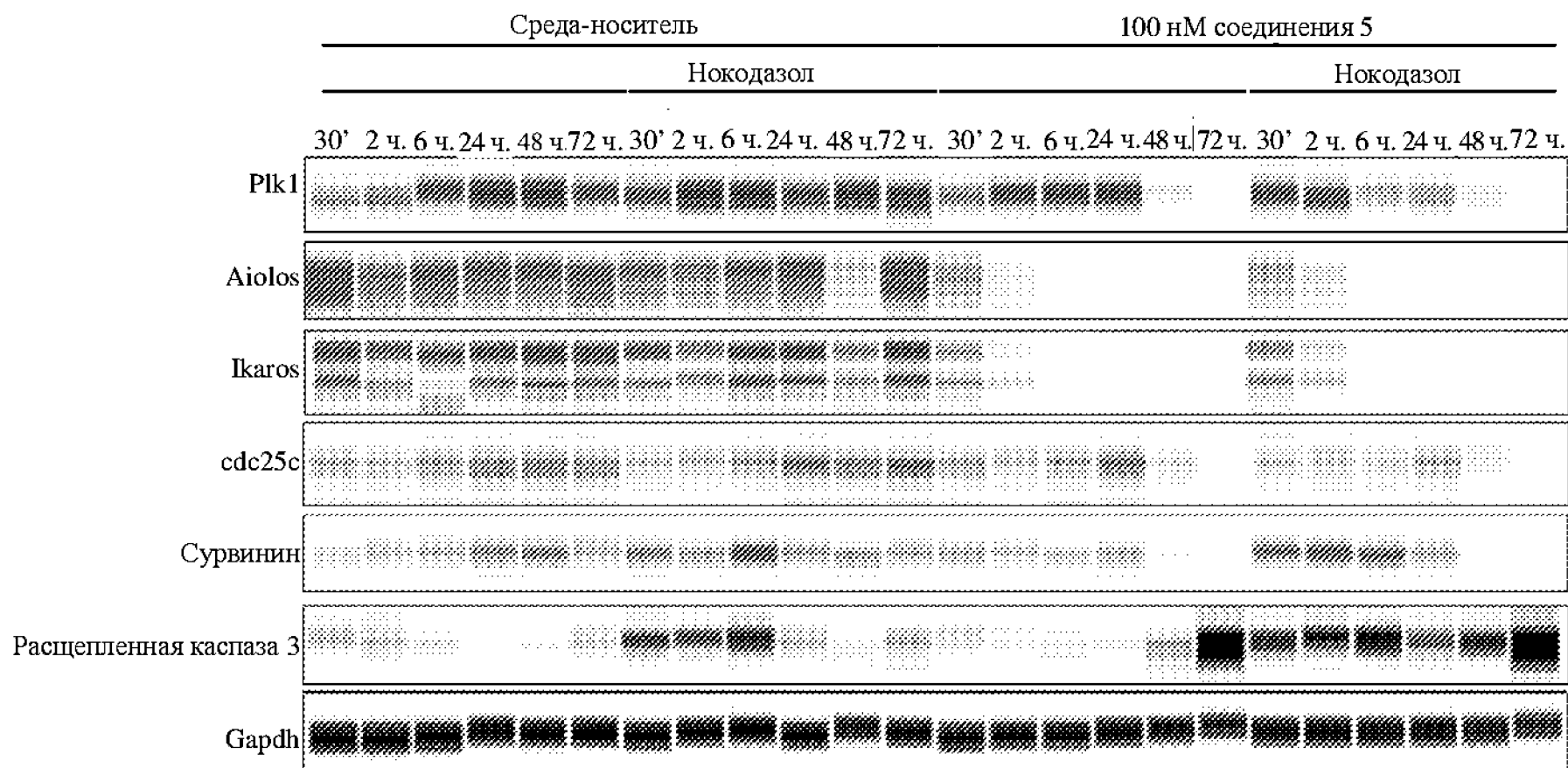


Фигура 2E

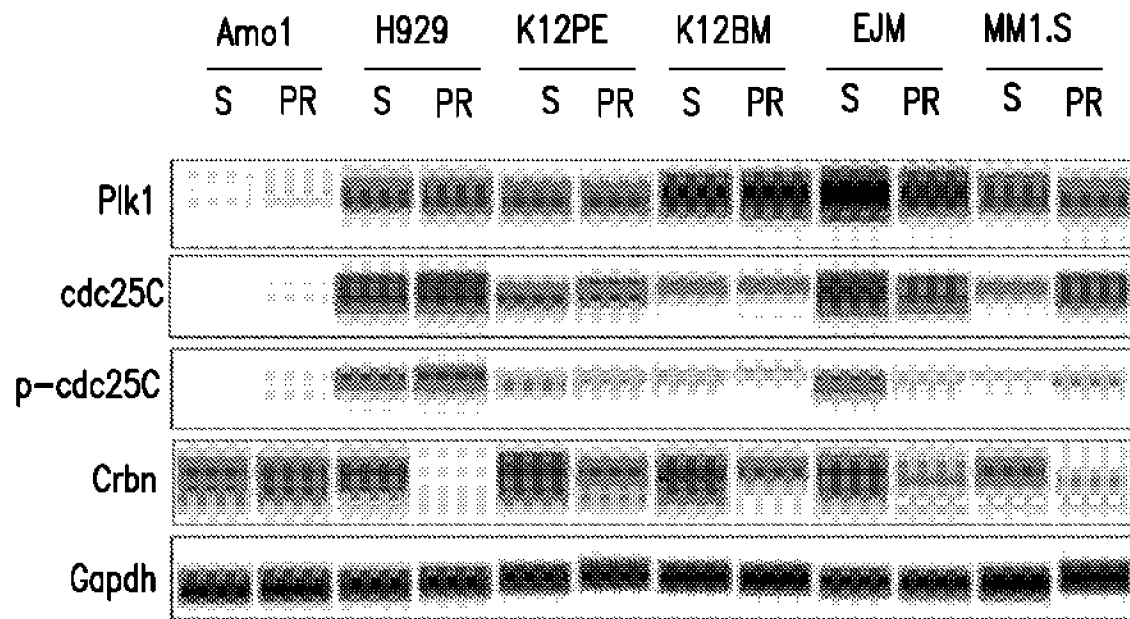


MM1.S

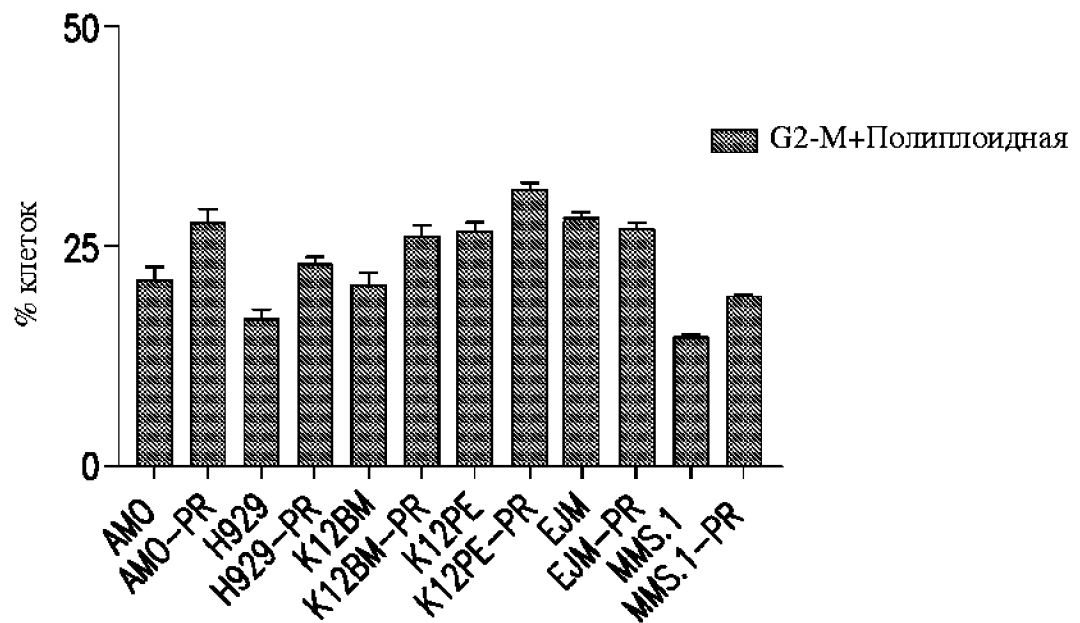
Фигура 2F



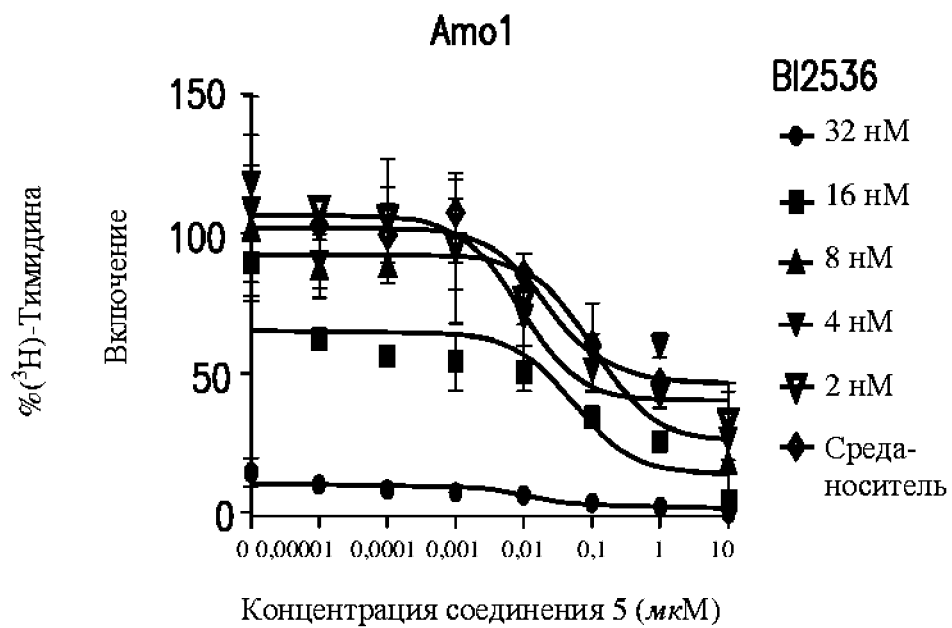
Фигура 3



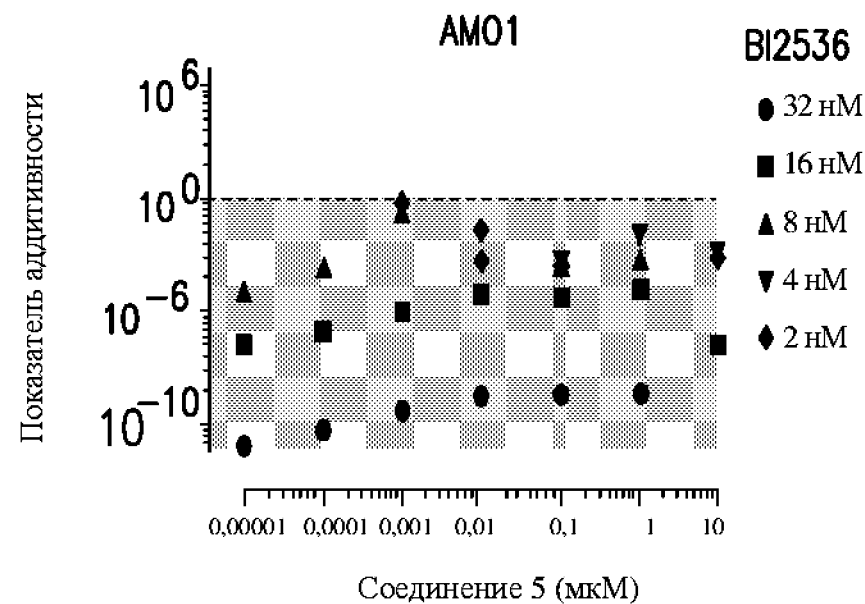
Фигура 4А



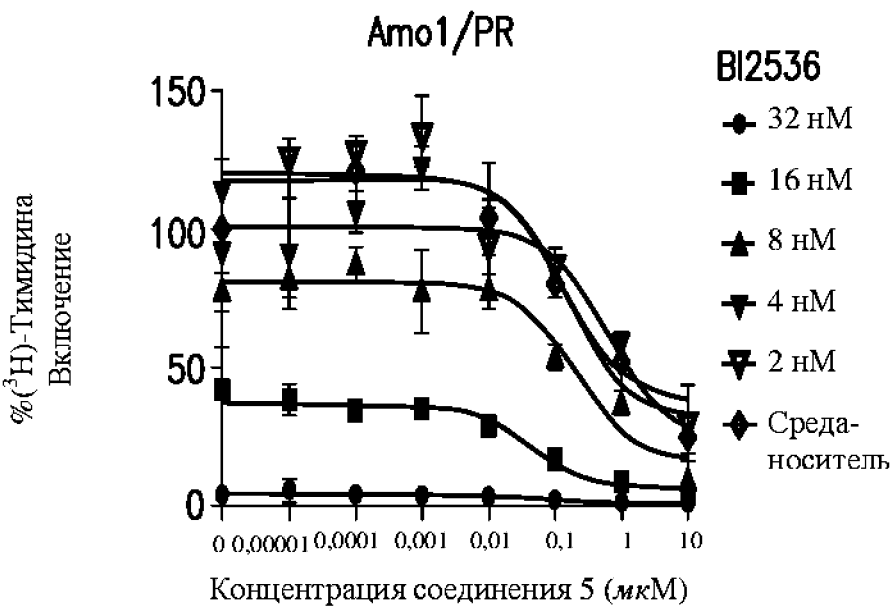
Фигура 4В



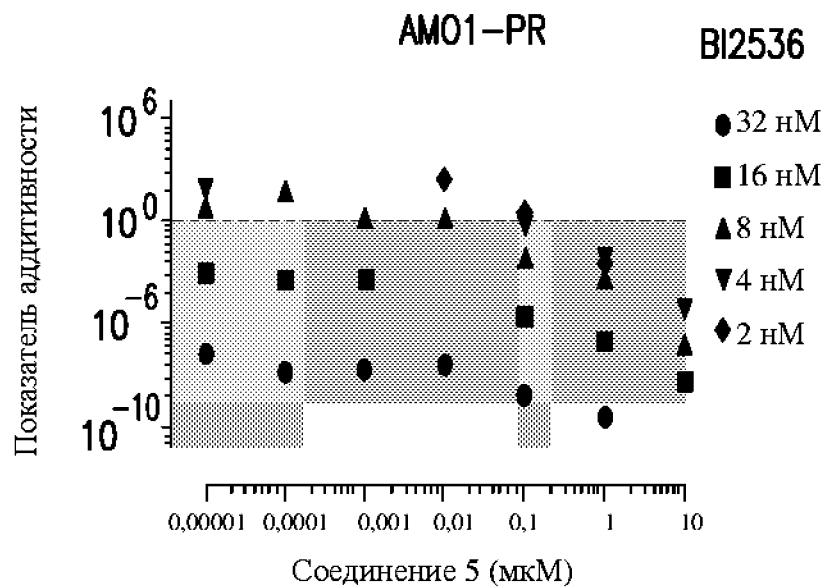
Фигура 5А



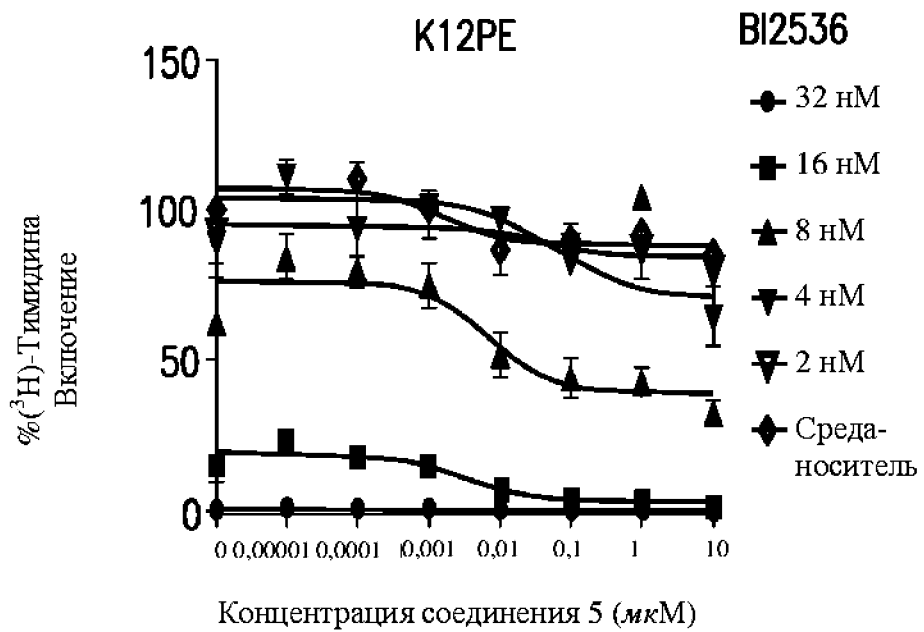
Фигура 5В



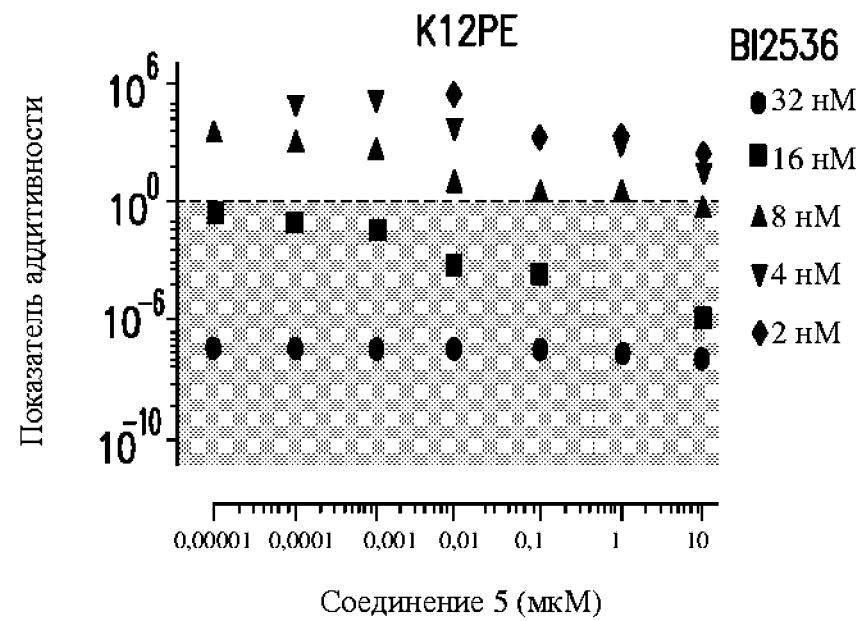
Фигура 5C



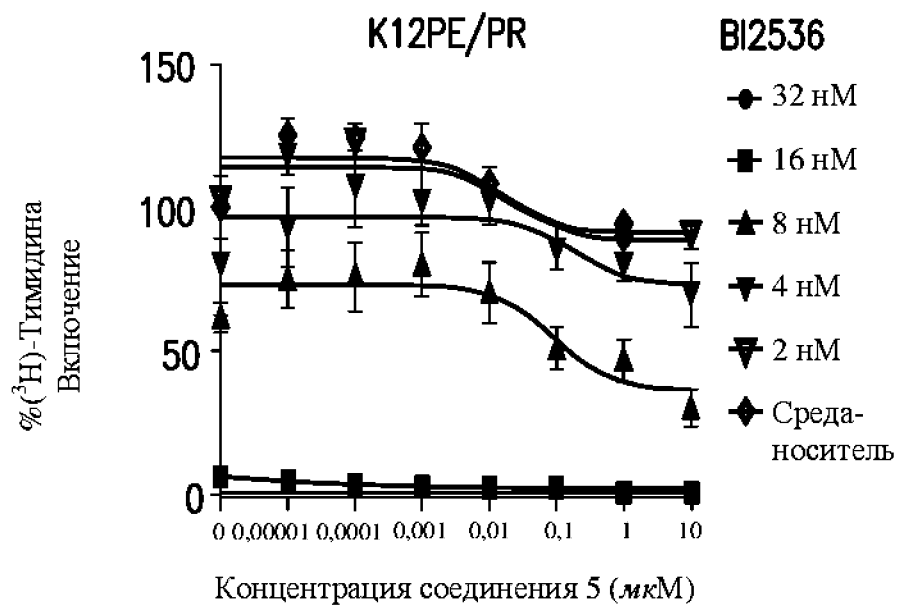
Фигура 5D



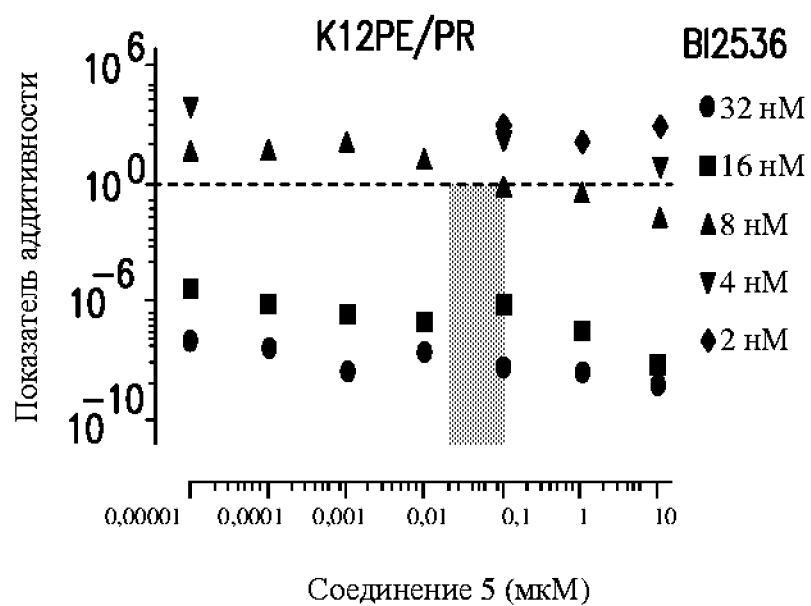
Фигура 5E



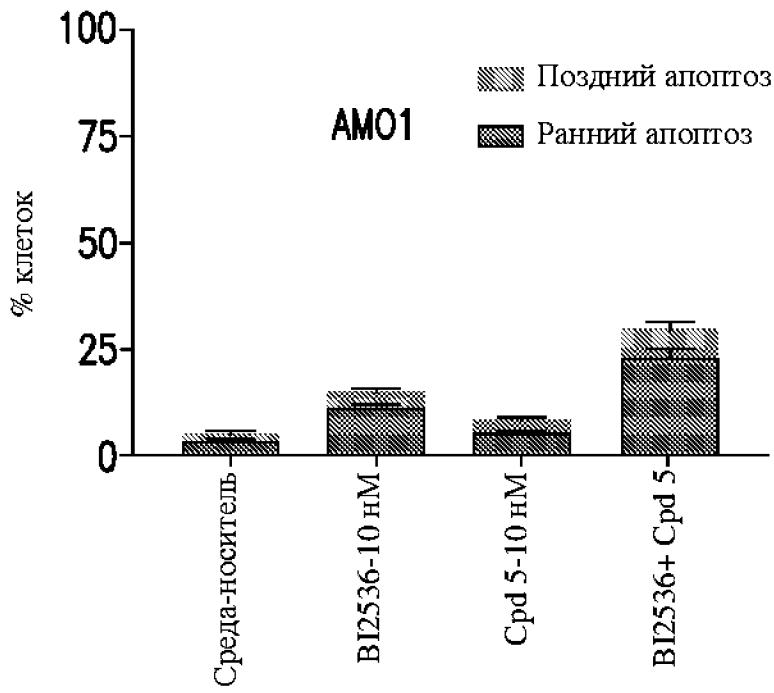
Фигура 5F



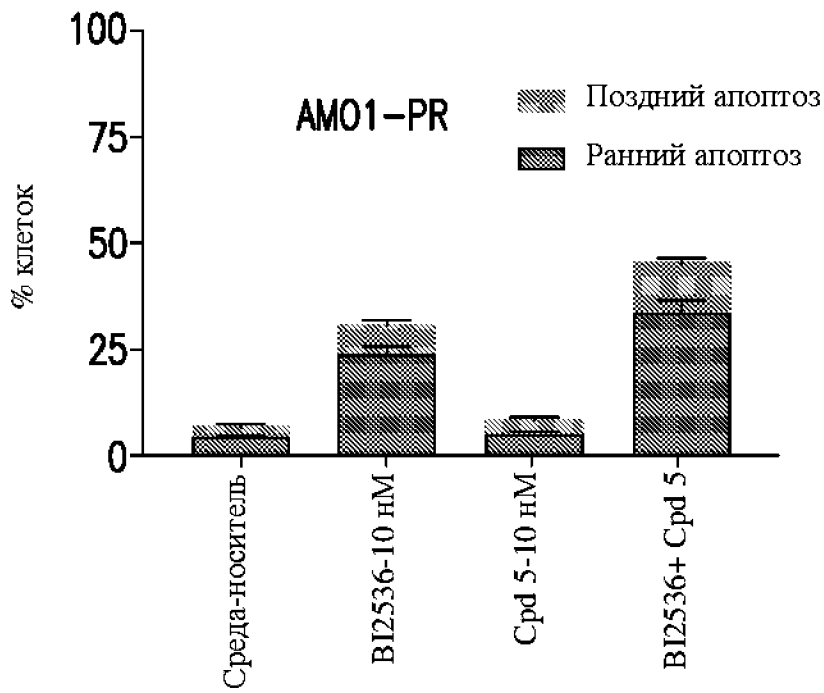
Фигура 5G



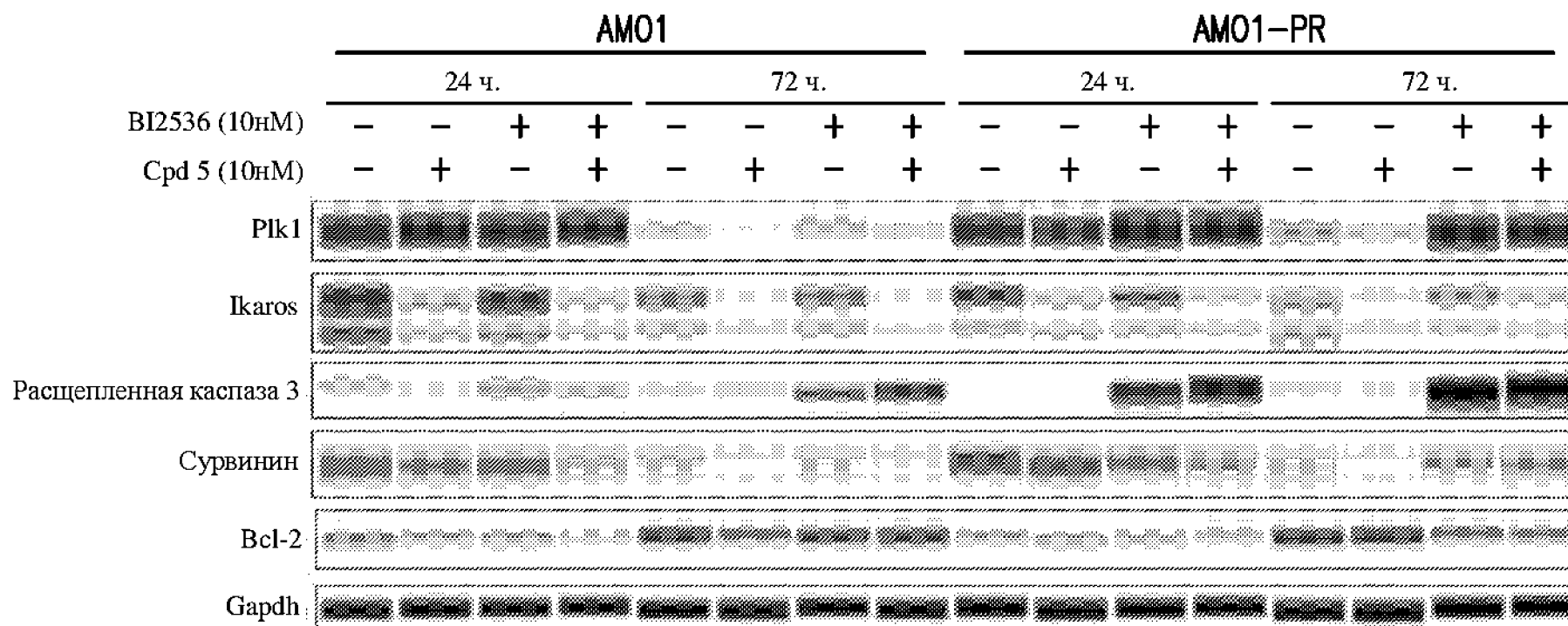
Фигура 5H



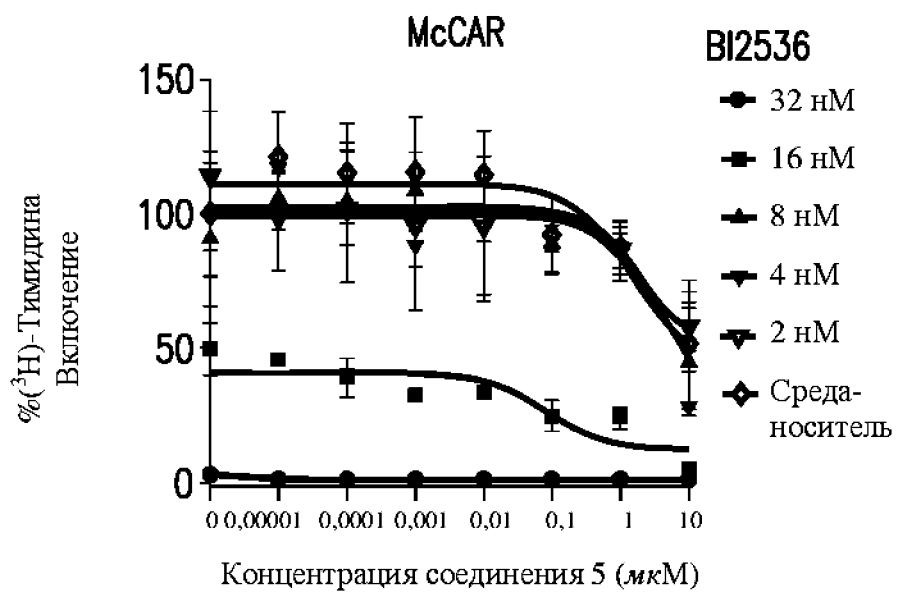
Фигура 5I



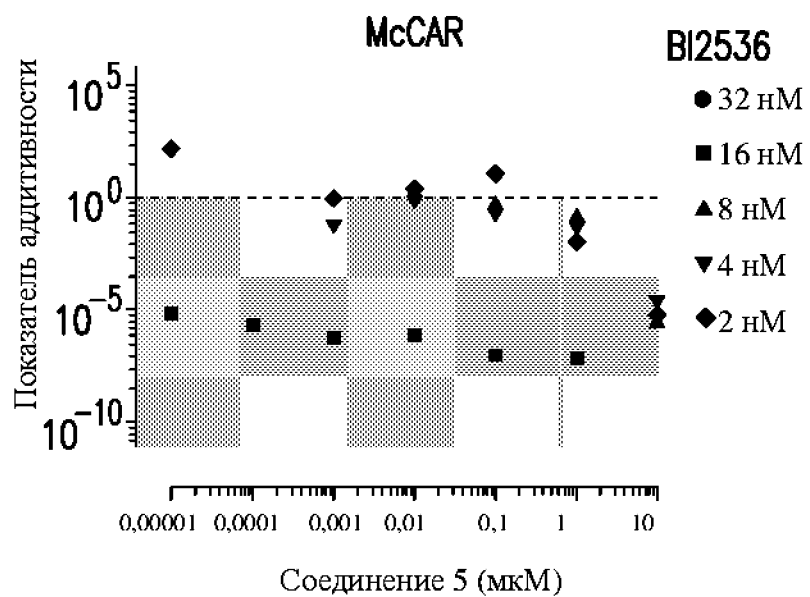
Фигура 5J



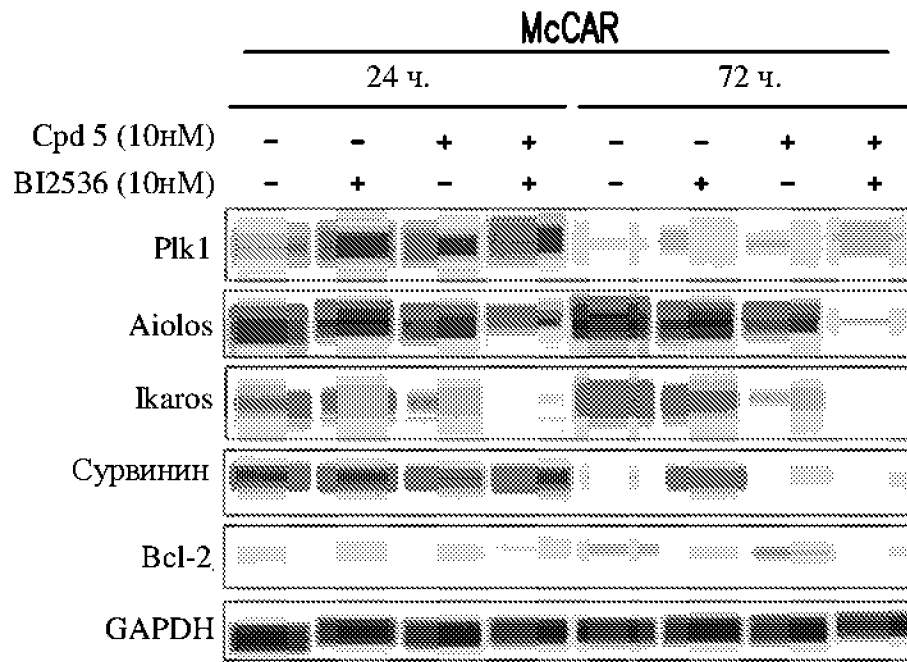
Фигура 5К



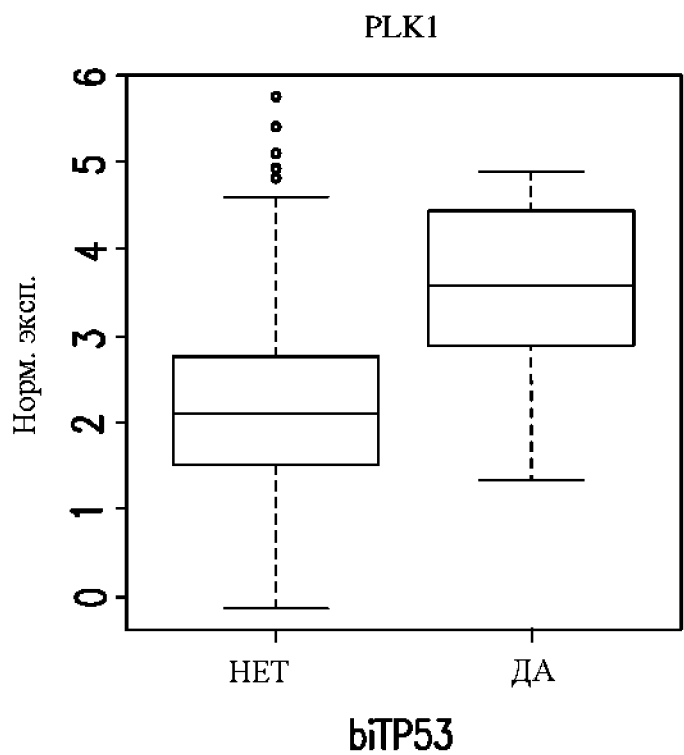
Фигура 6А



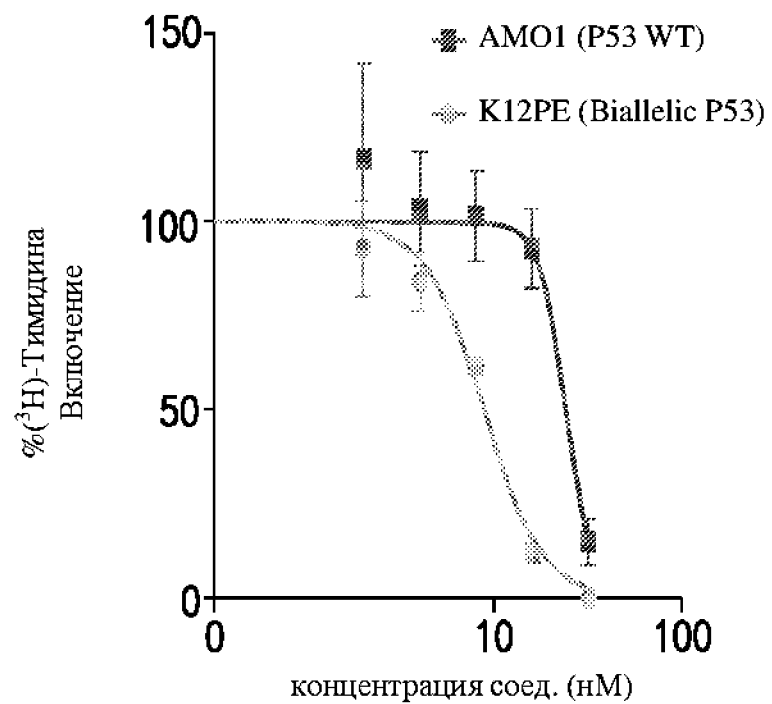
Фигура 6В



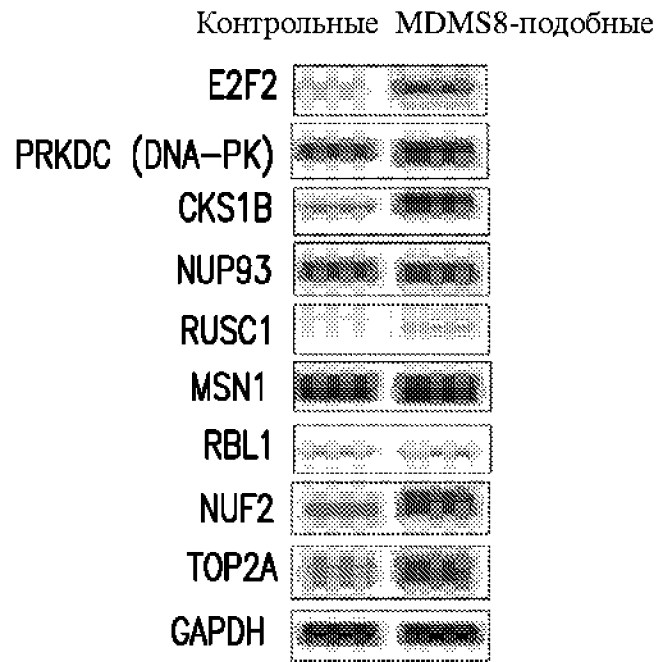
Фигура 6С



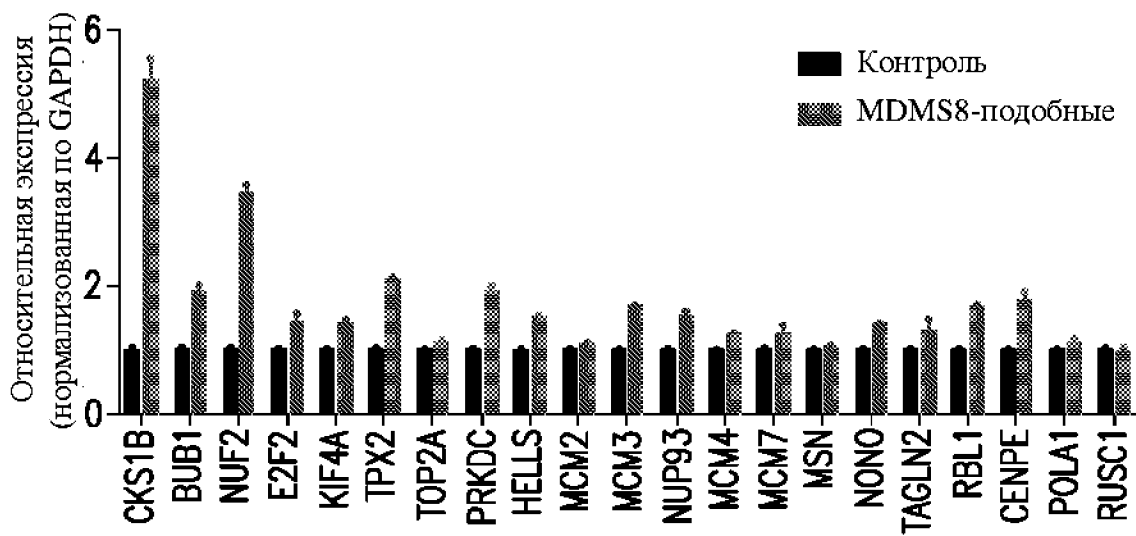
Фигура 7А



Фигура 7В



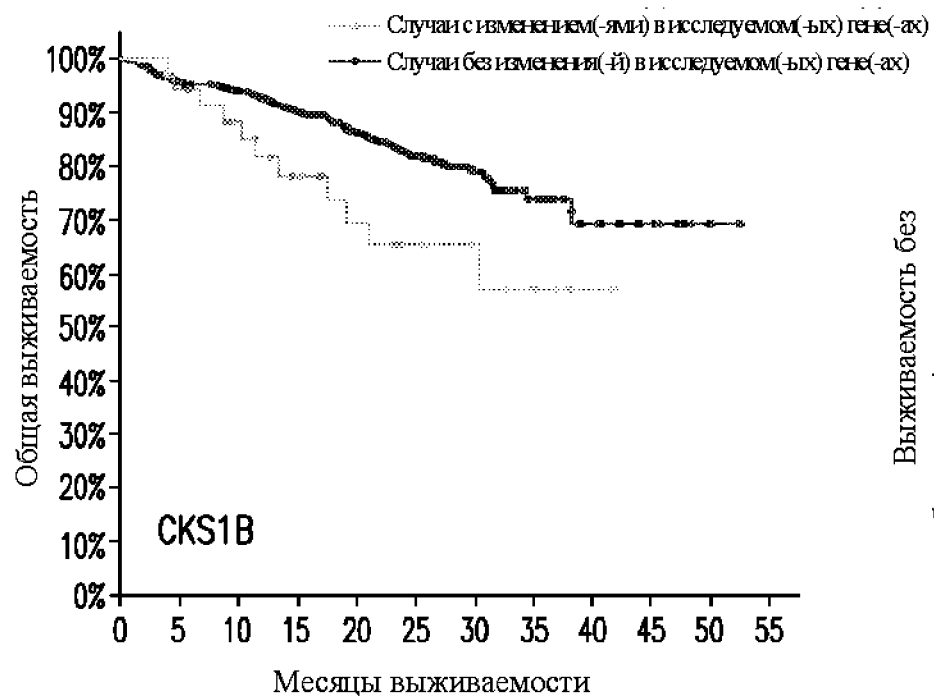
Фигура 8А



Фигура 8В

Общая выживаемость по оценкам Каплана-Мейера

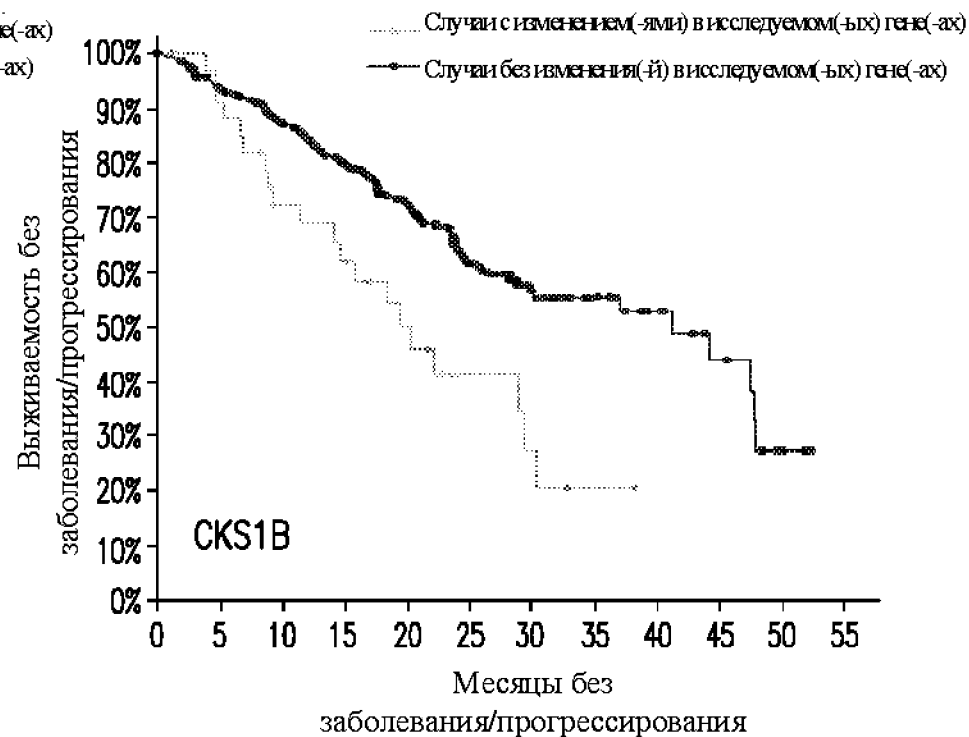
Логарифмический ранговый критерий, р-значение: 0,0255



Фигура 9А

Без заболевания/прогрессирования по оценкам Каплана-Мейера

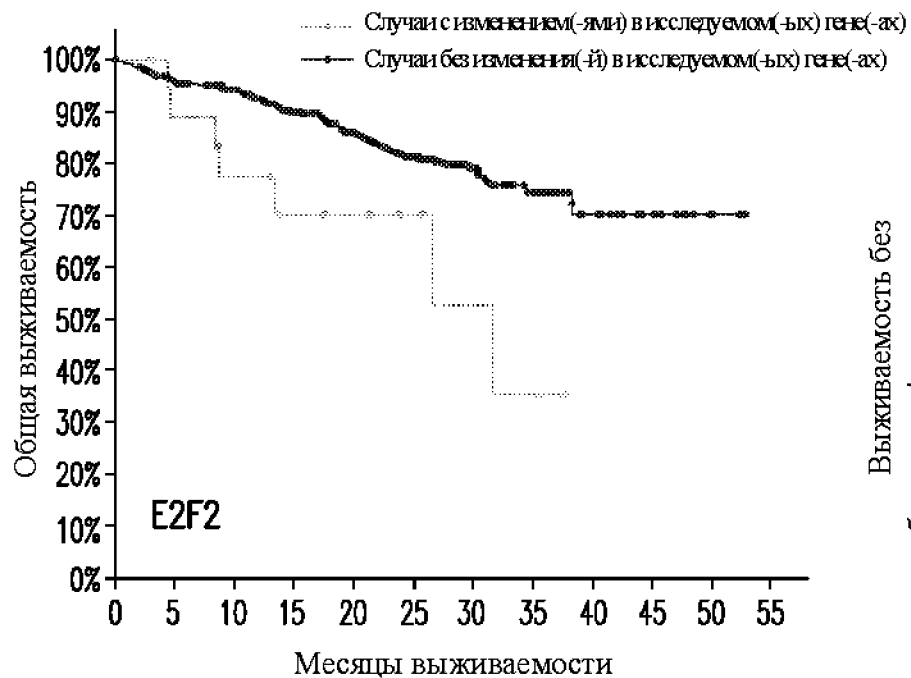
Логарифмический ранговый критерий, р-значение: $8,142 \cdot 10^{-4}$



Фигура 9В

Общая выживаемость по оценкам Каплана-Мейера

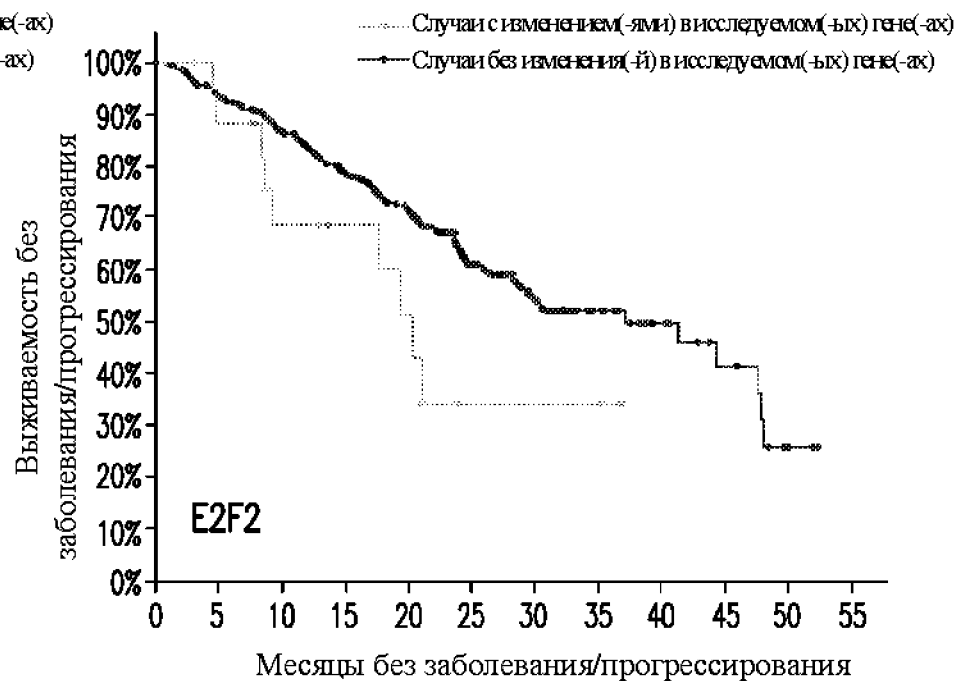
Логарифмический ранговый критерий, р-значение: $7,445 \cdot 10^{-3}$



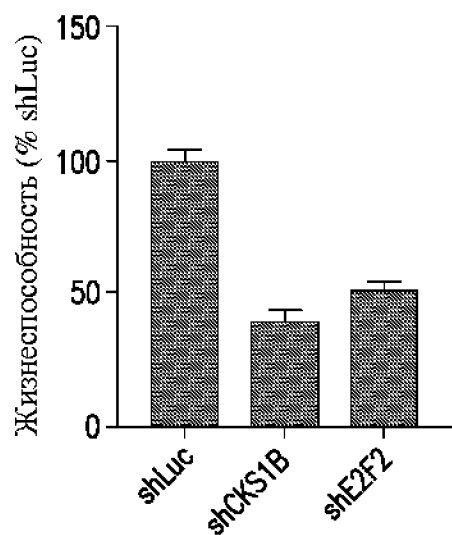
Фигура 9С

Без заболевания/прогрессирования по оценкам Каплана-Мейера

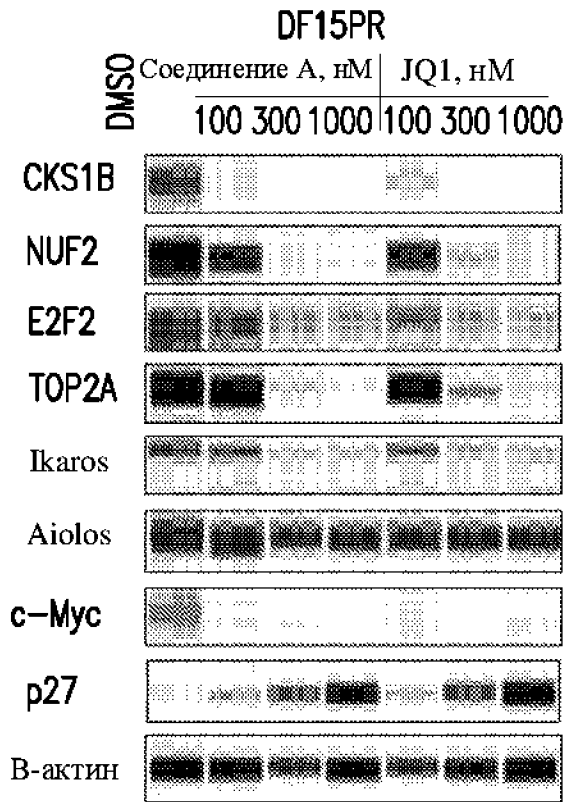
Логарифмический ранговый критерий, р-значение: 0,0435



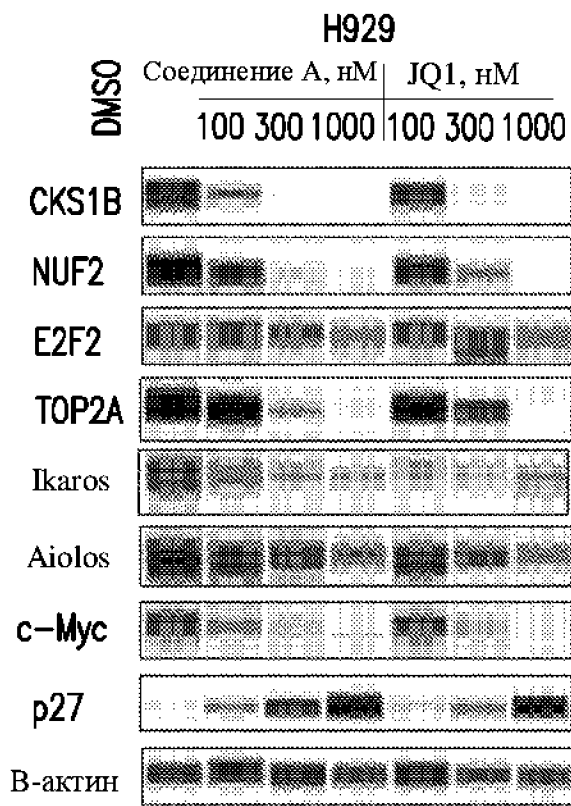
Фигура 9D



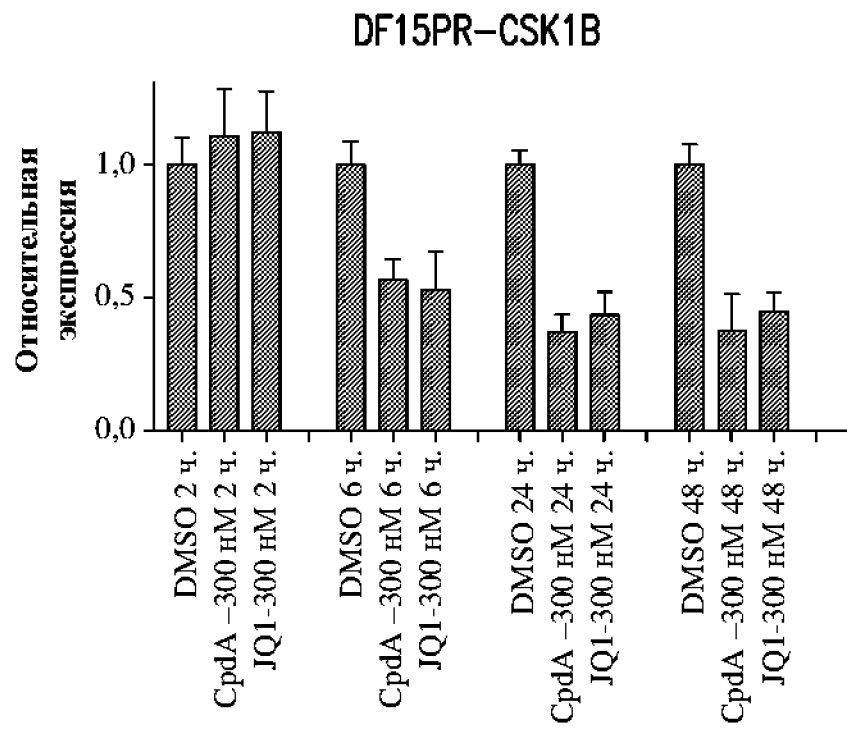
Фигура 9E



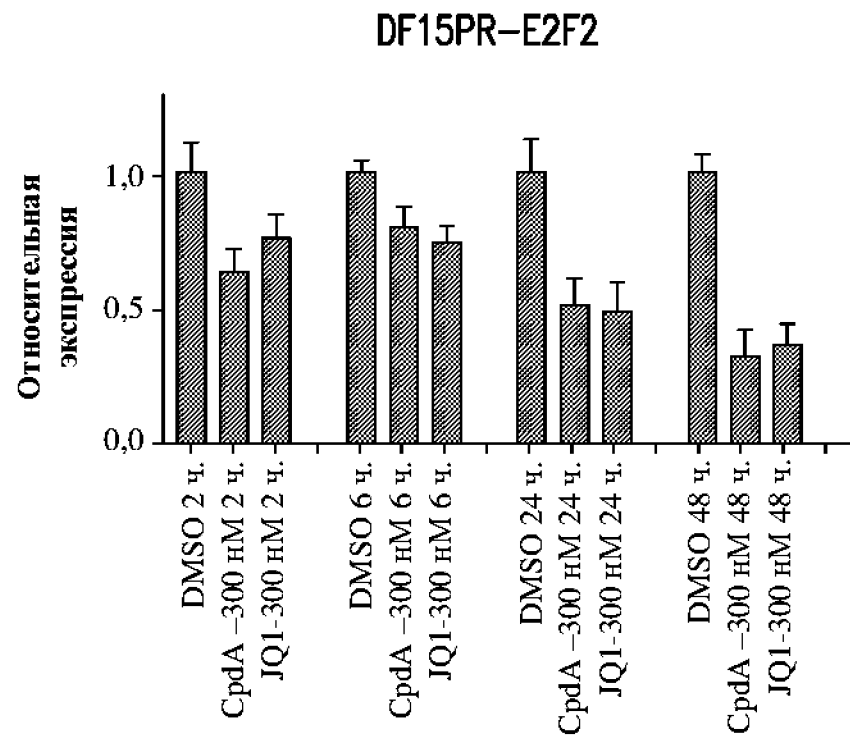
Фигура 10А



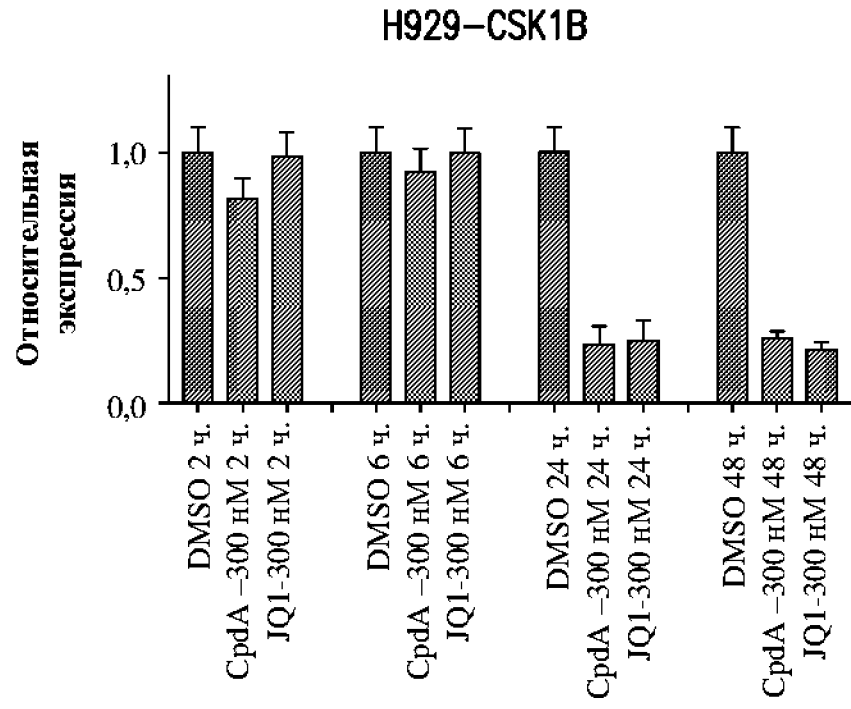
Фигура 10В



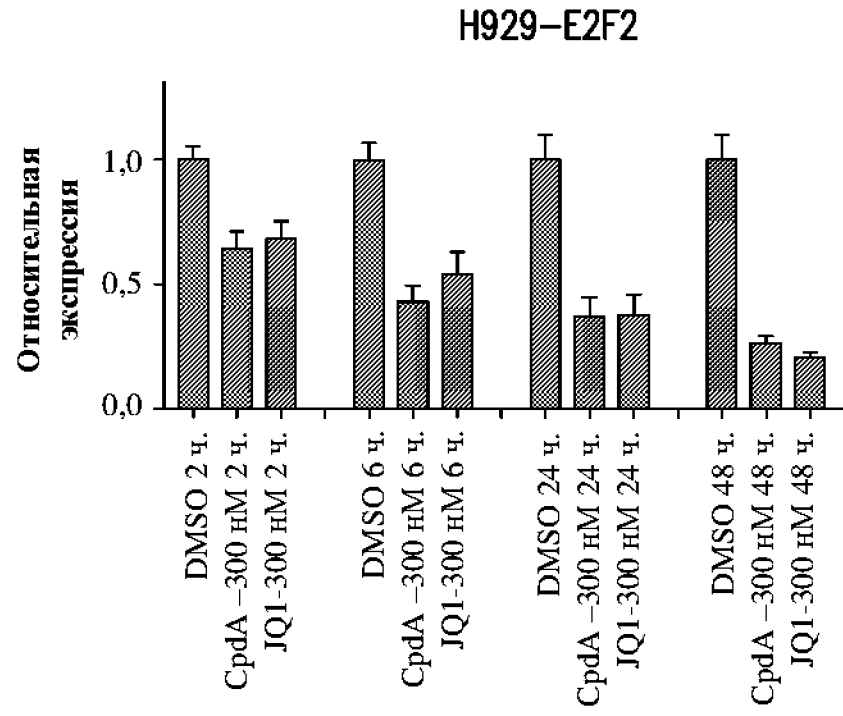
Фигура 10С



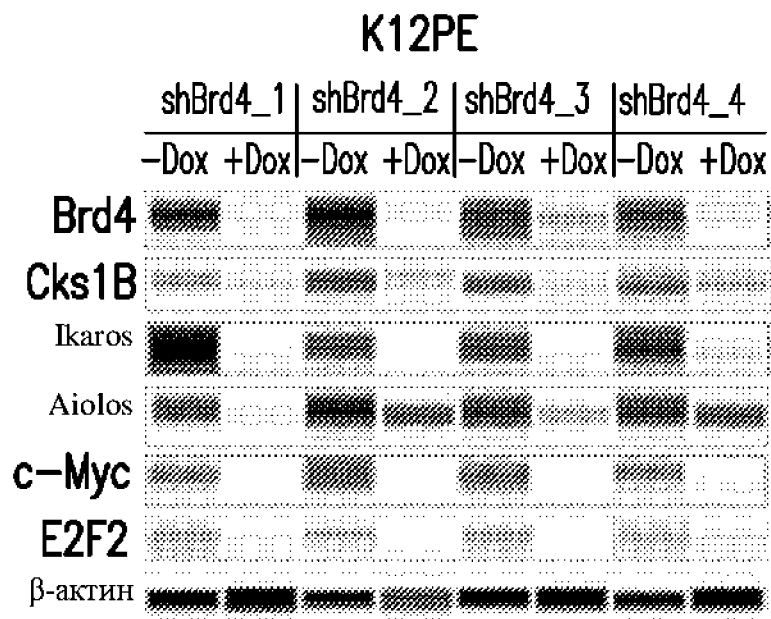
Фигура 10D



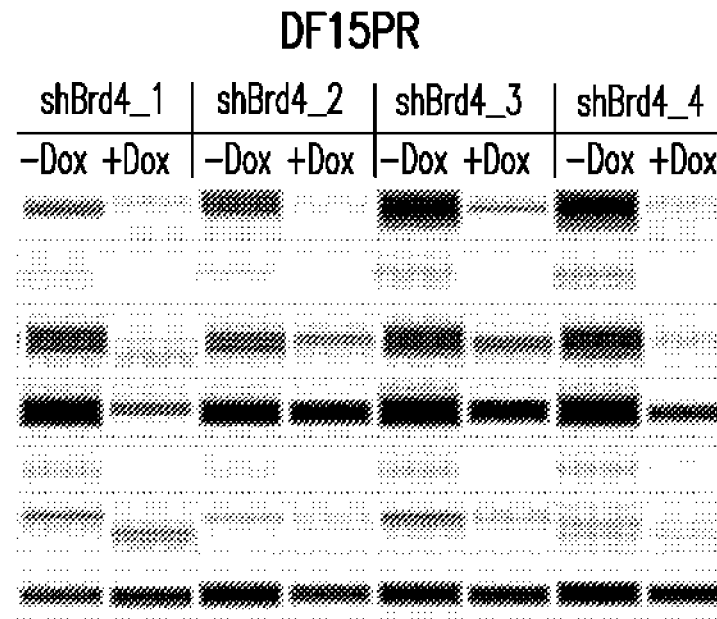
Фигура 10E



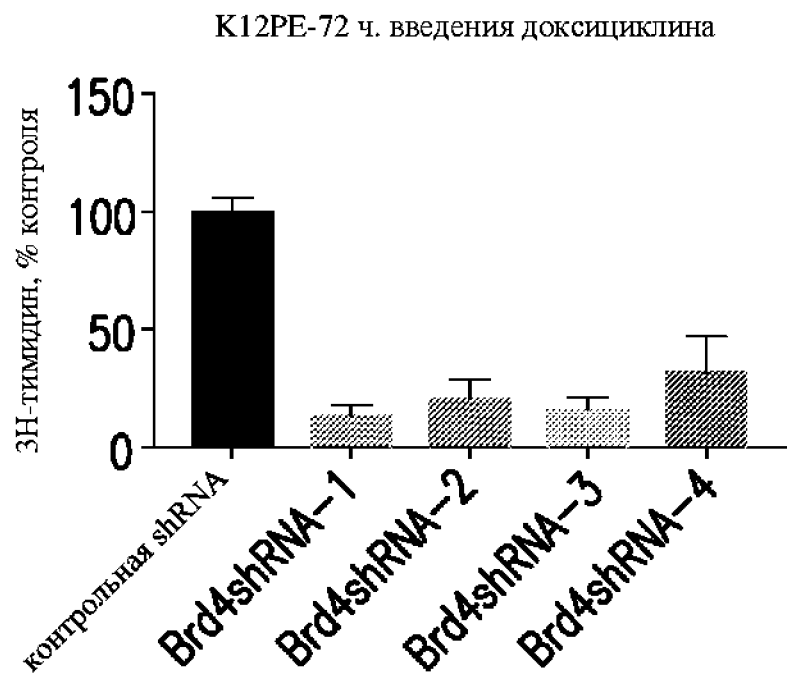
Фигура 10F



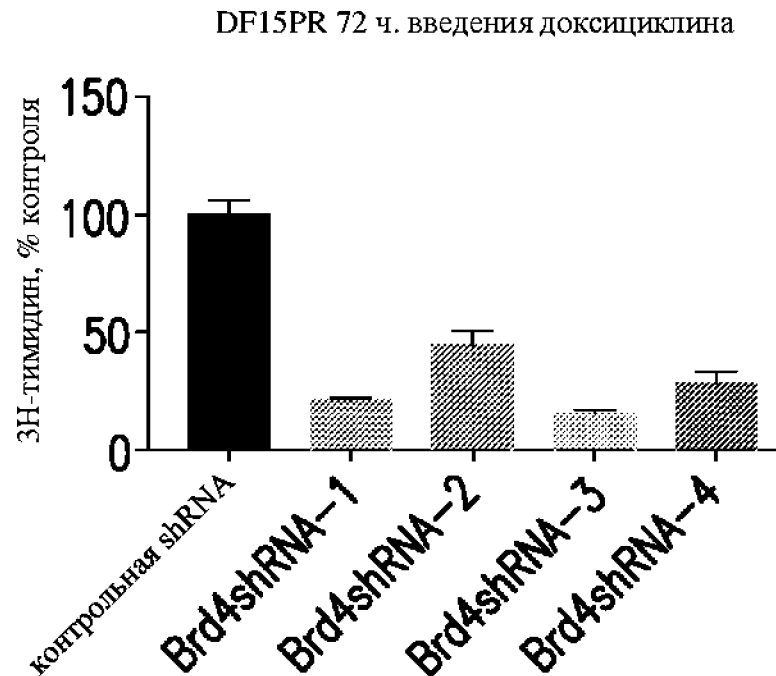
Фигура 11А



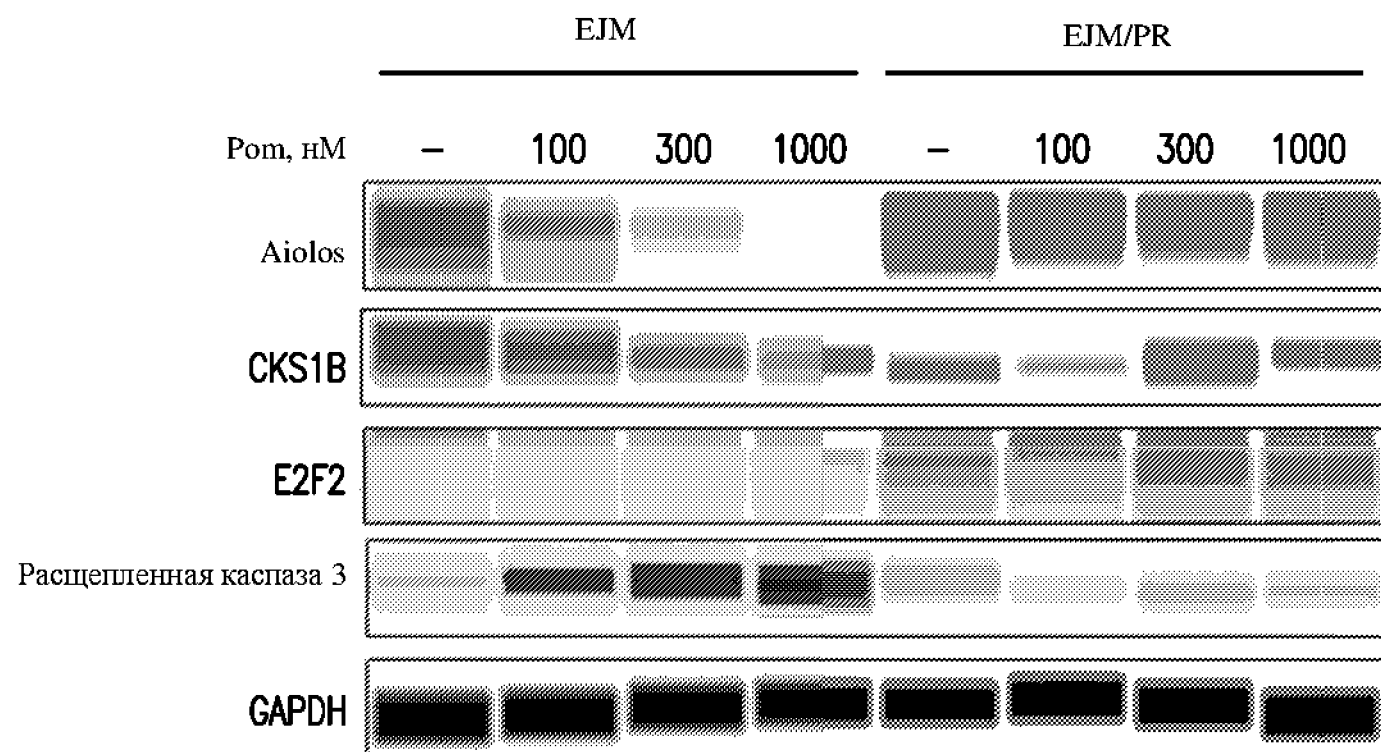
Фигура 11В



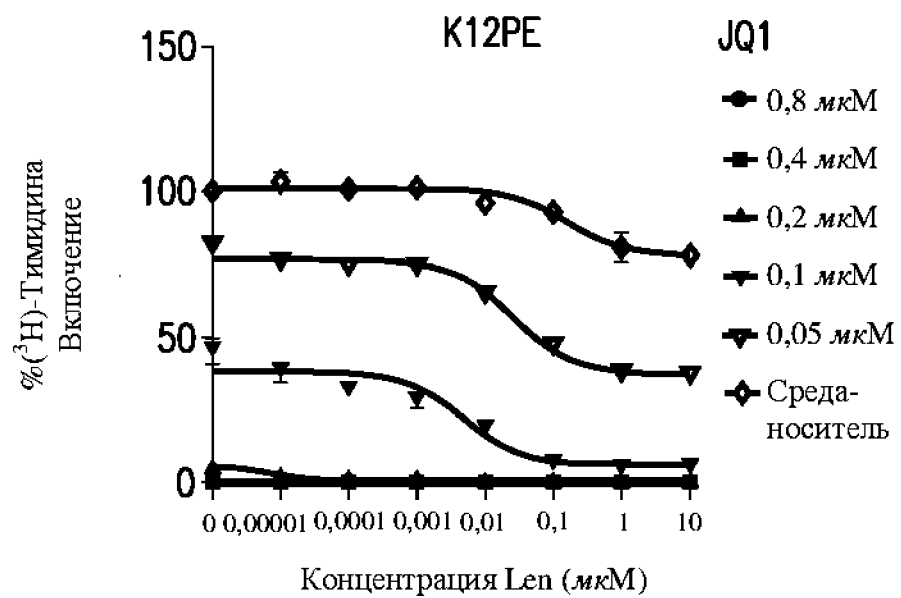
Фигура 11C



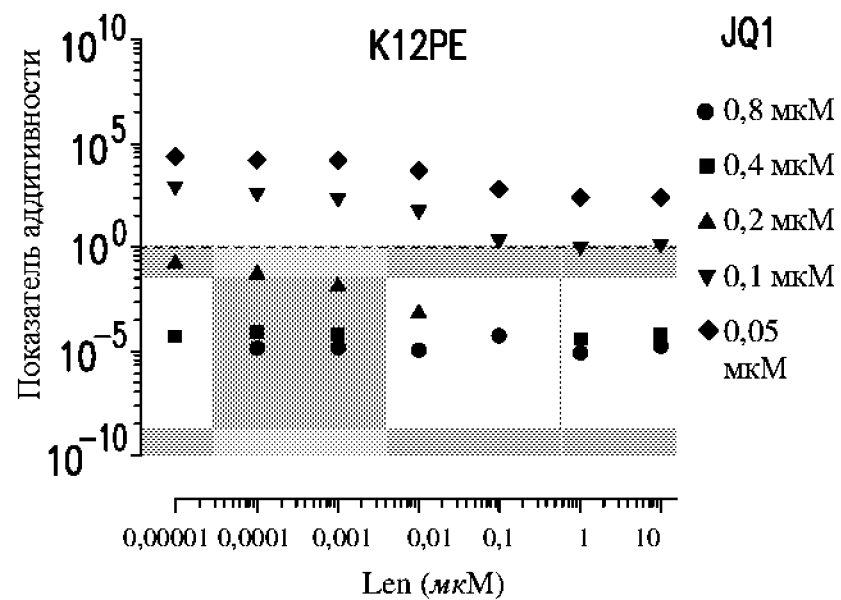
Фигура 11D



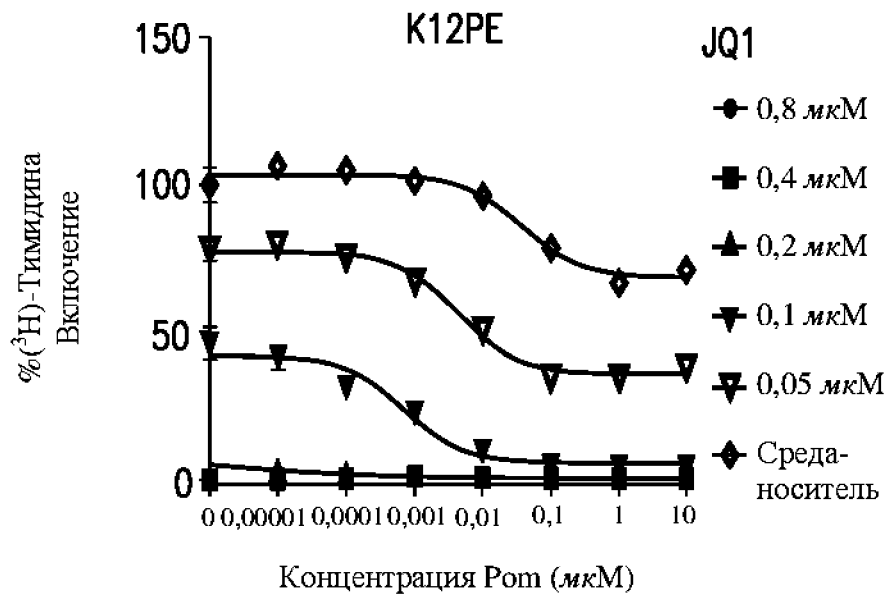
Фигура 12



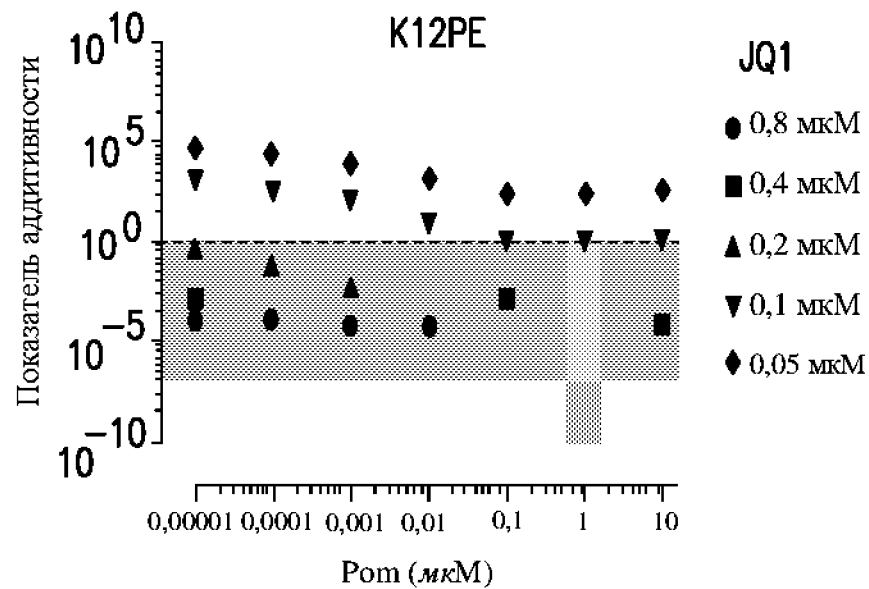
Фигура 13А



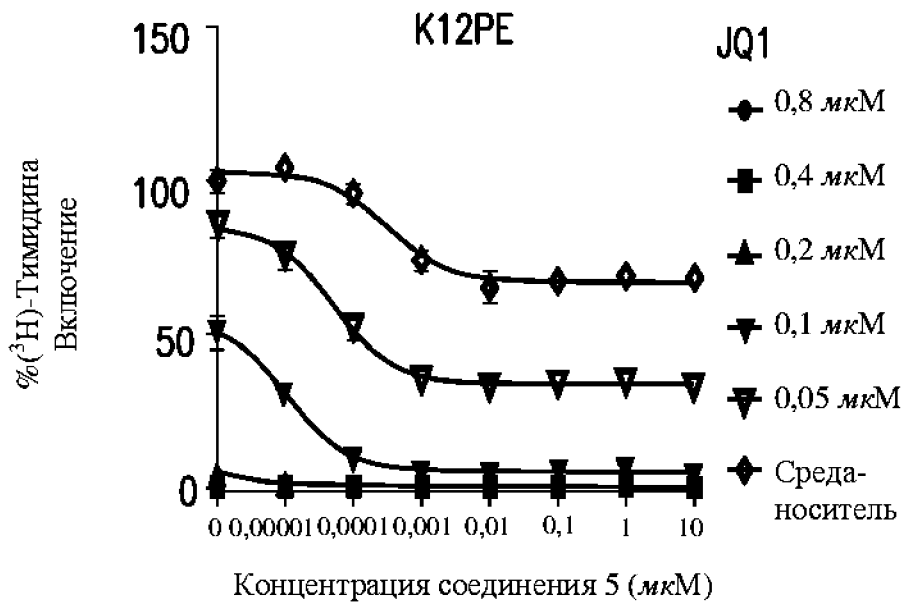
Фигура 13В



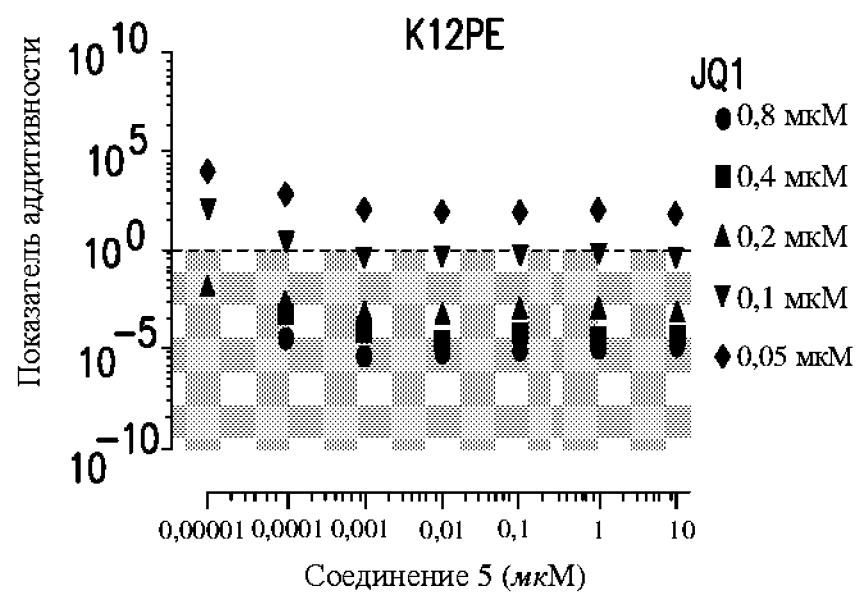
Фигура 13C



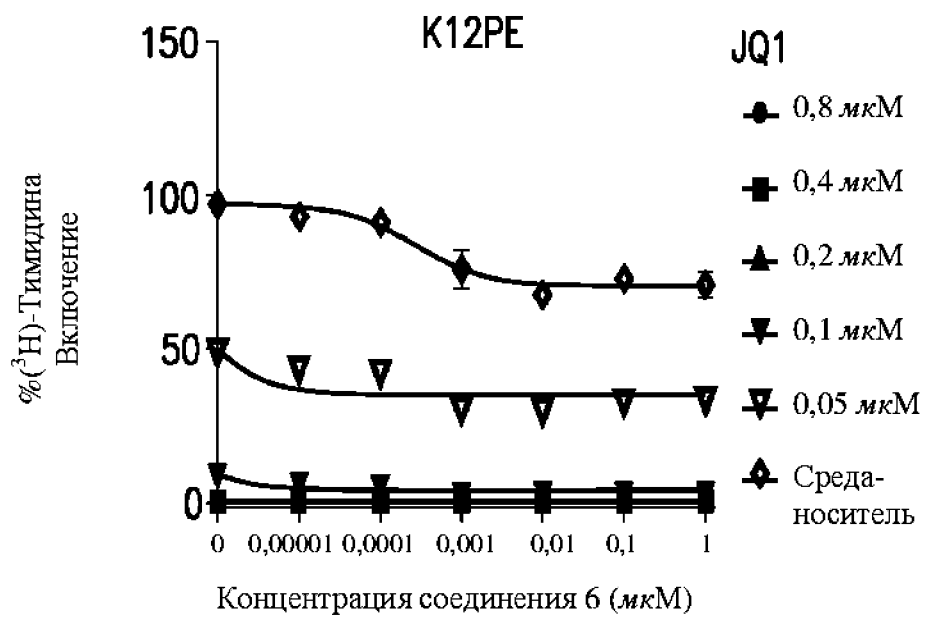
Фигура 13D



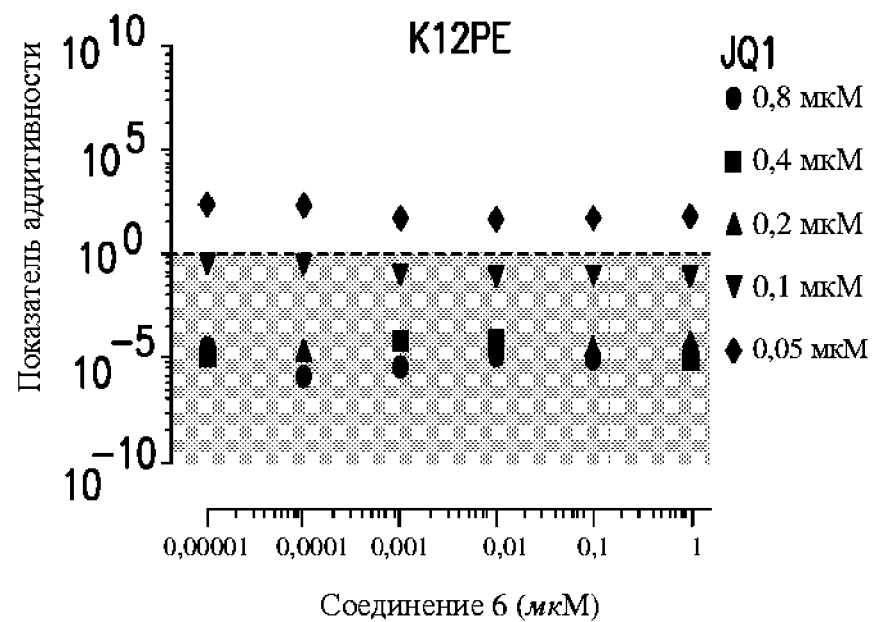
Фигура 13Е



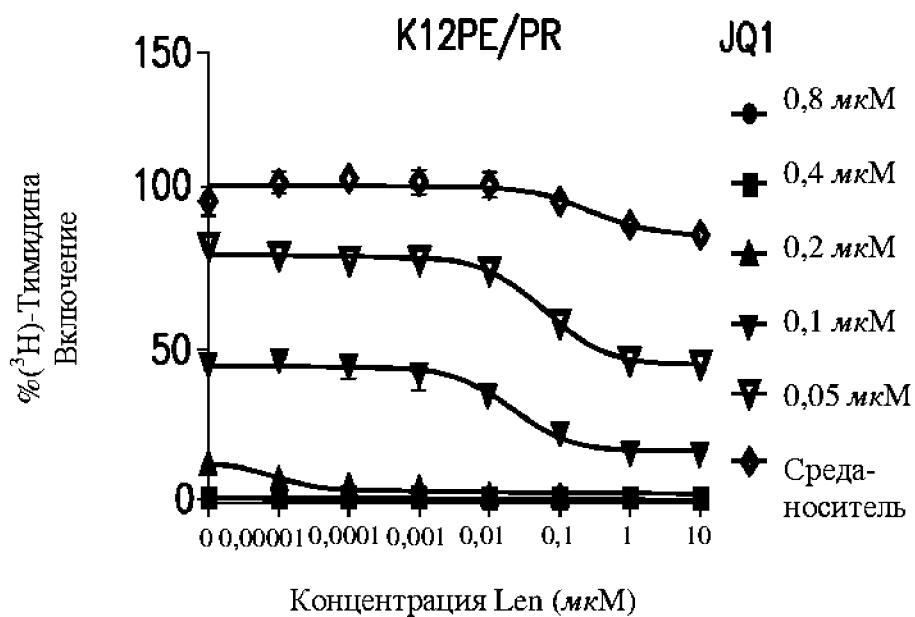
Фигура 13F



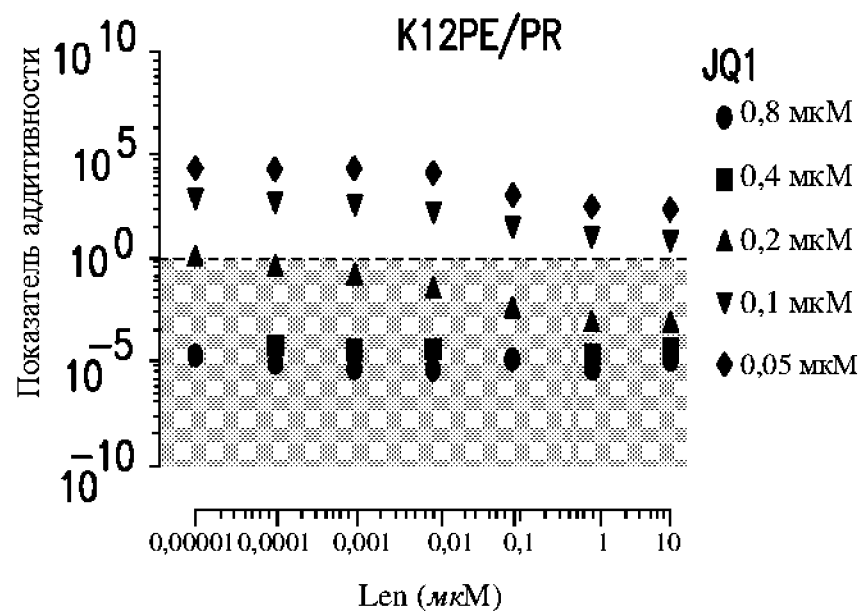
Фигура 13G



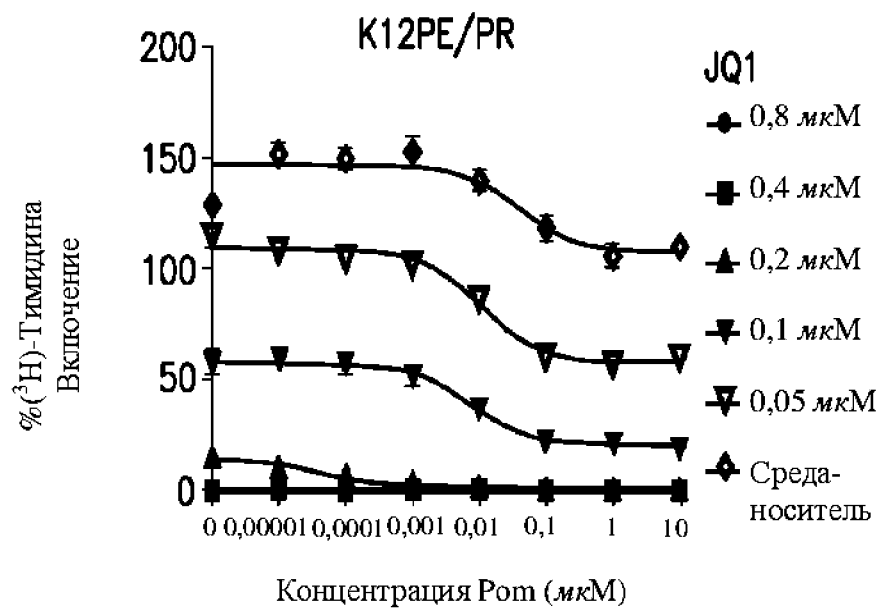
Фигура 13H



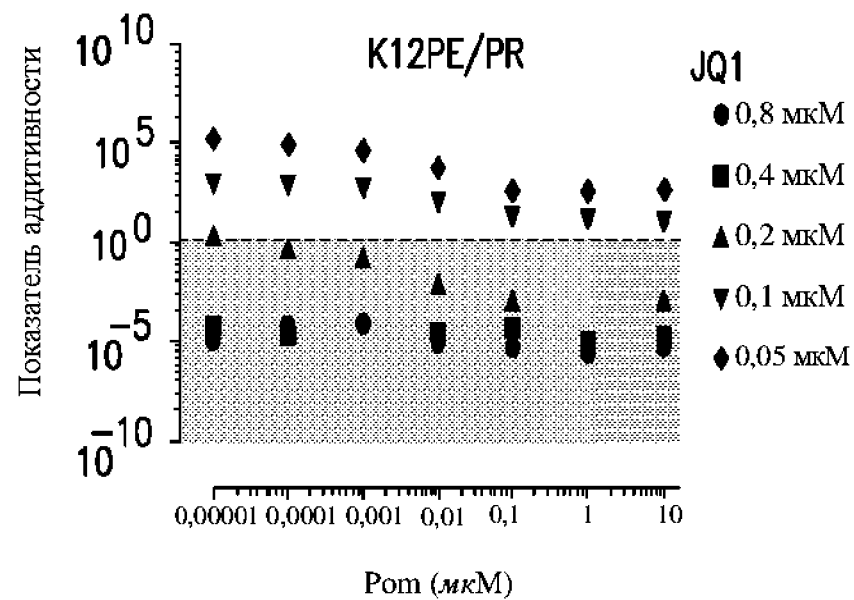
Фигура 13I



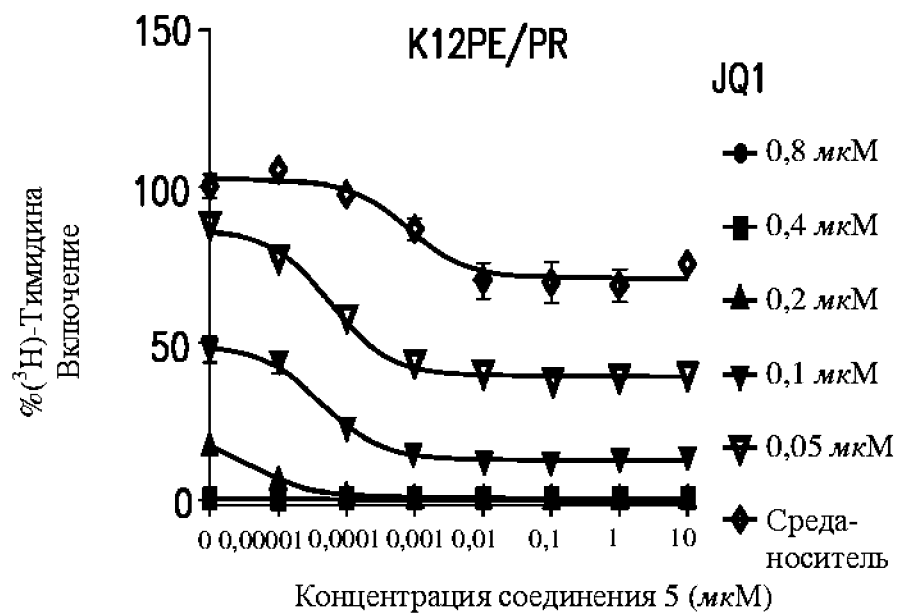
Фигура 13J



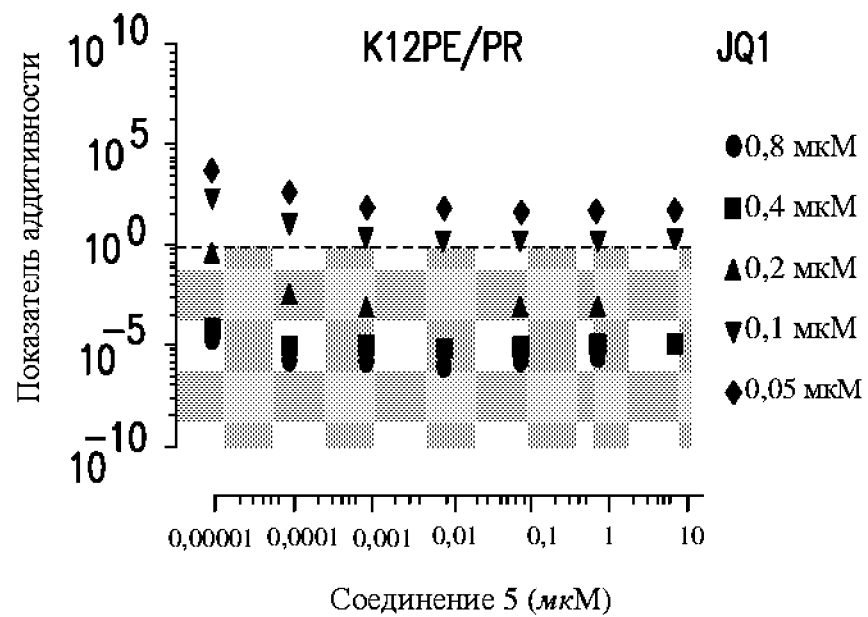
Фигура 13К



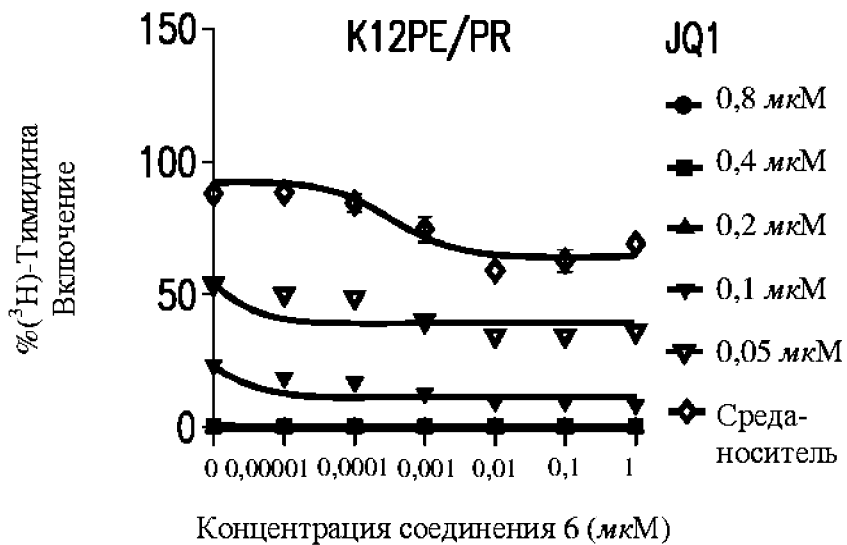
Фигура 13Л



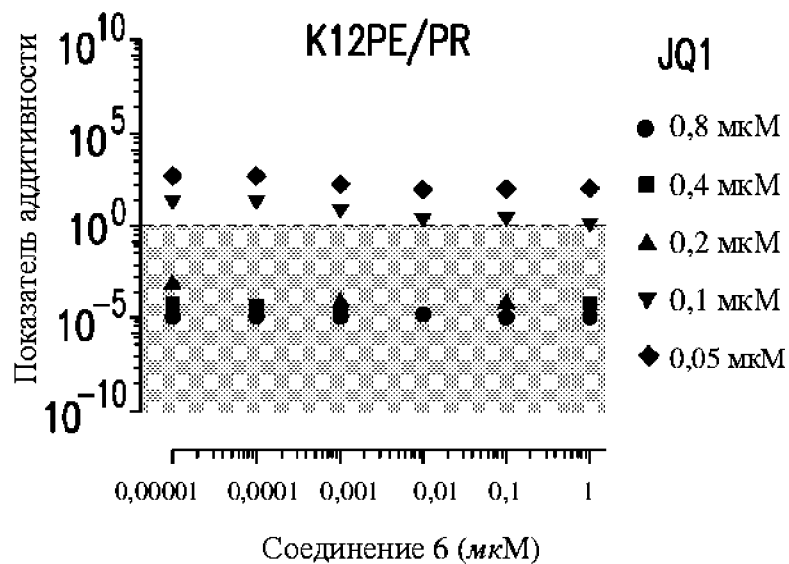
Фигура 13М



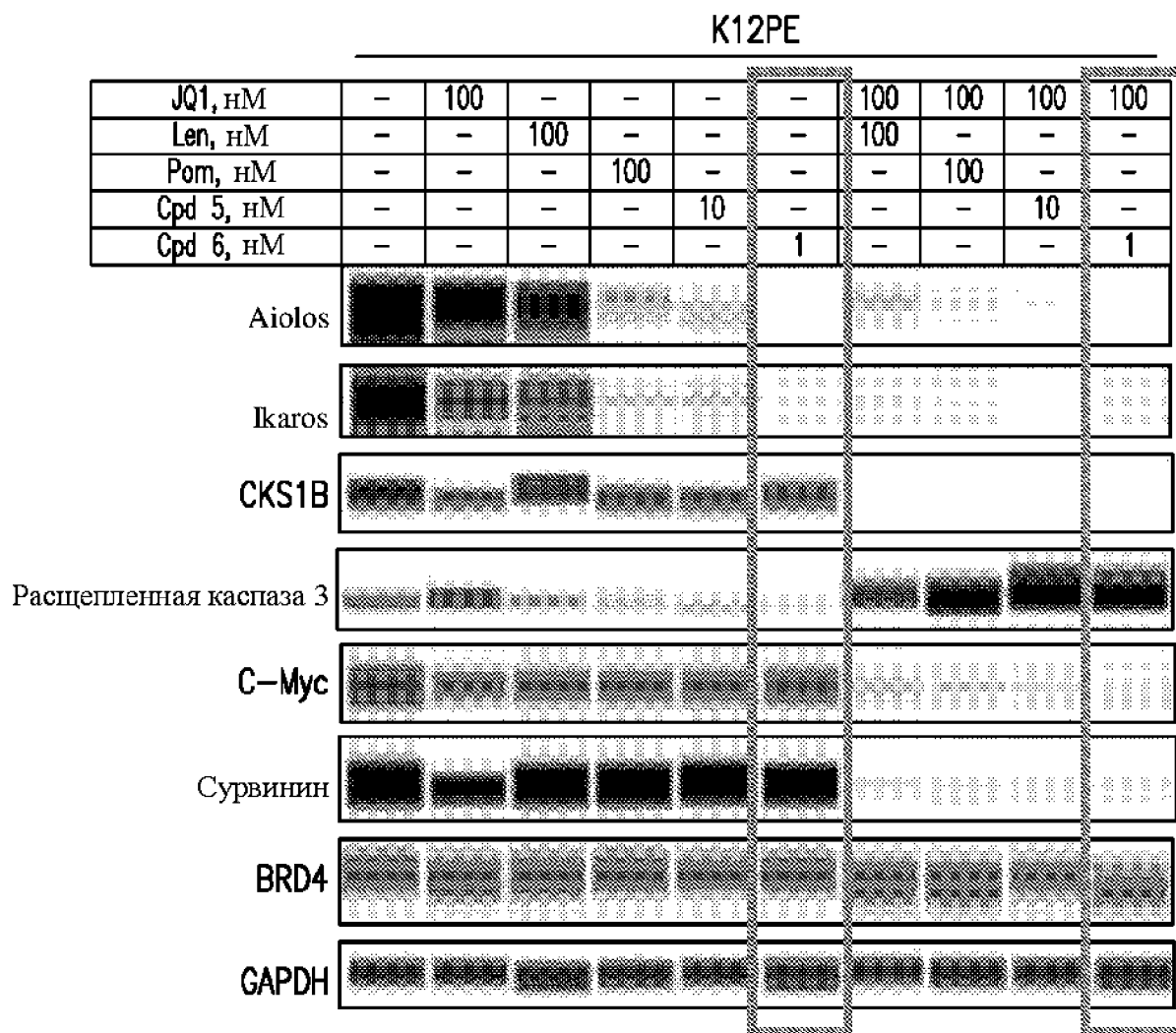
Фигура 13N



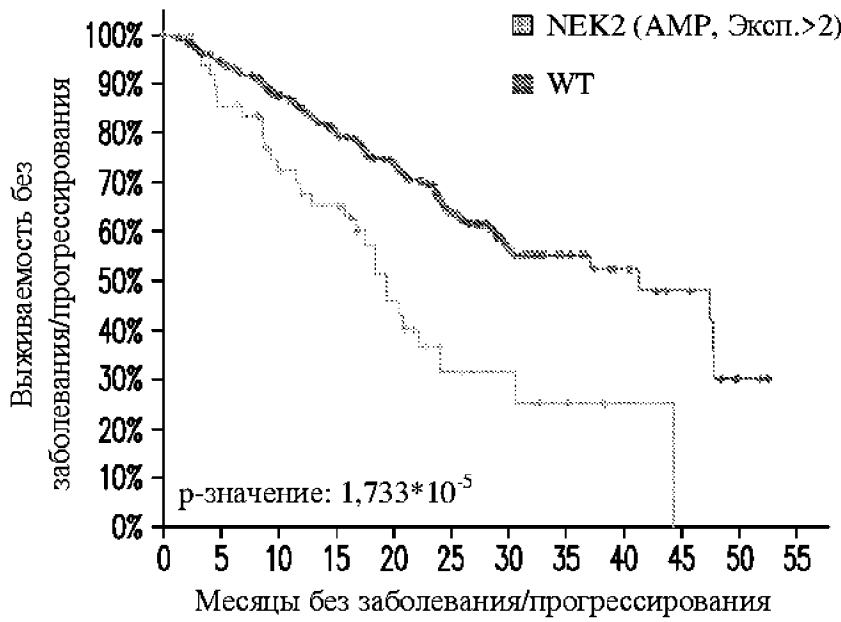
Фигура 130



Фигура 13P

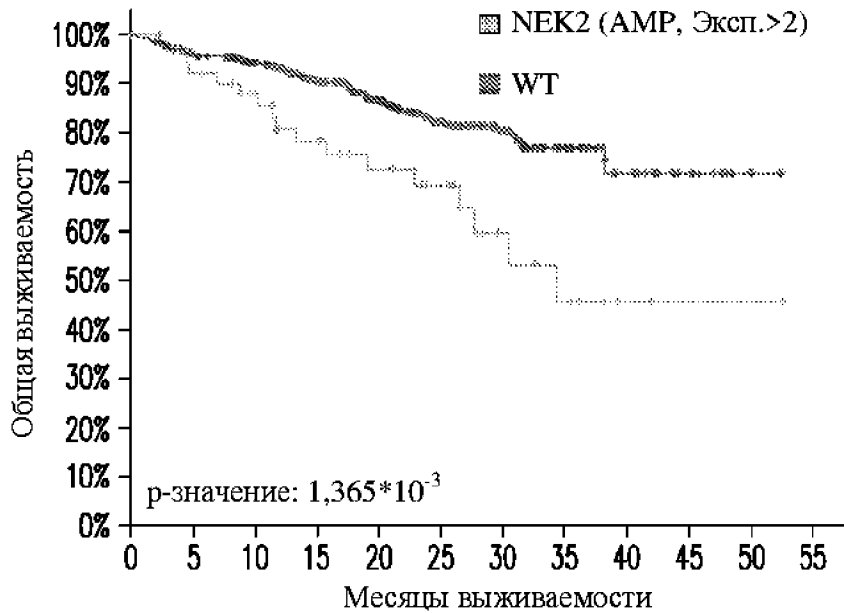


Фигура 13Q



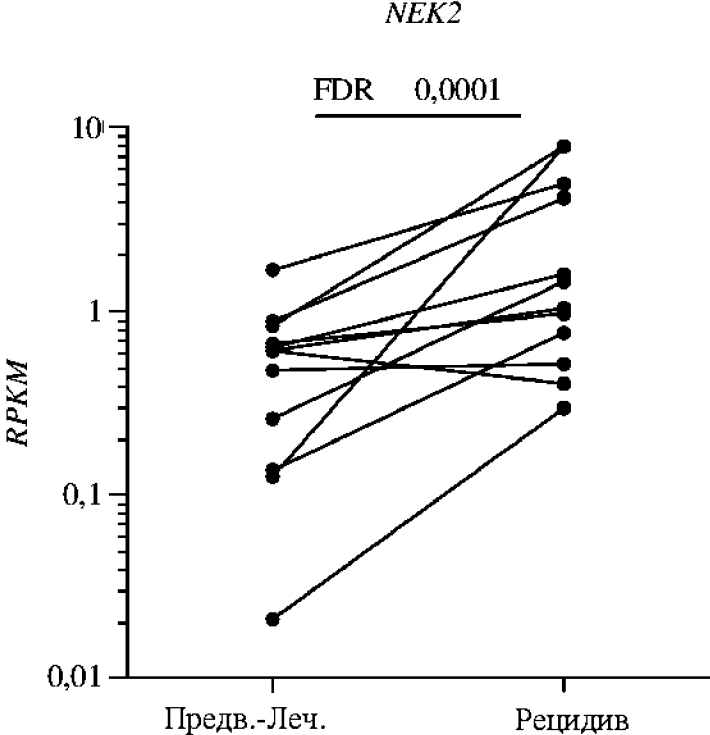
Случаи с изменением(-ями) в исследуемом(-ых) гене(-ах)	Количество случаев,		Медиана месяцев выживаемости
	Общее	Умершие	
Случаи с изменением(-ями) в исследуемом(-ых) гене(-ах)	52	29	19,36666667
Случаи без изменения(-й) в исследуемом(-ых) гене(-ах)	462	132	41,33333333

Фигура 14А

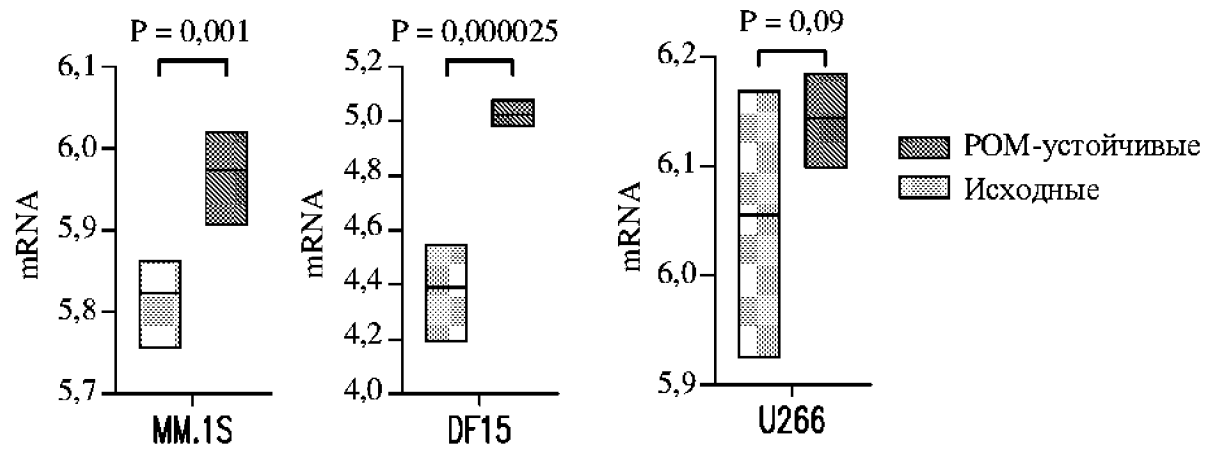


Случаи с изменением(-ями) в исследуемом(-ых) гене(-ах)	Количество случаев,		Медиана месяцев выживаемости
	Общее	Умершие	
Случаи с изменением(-ями) в исследуемом(-ых) гене(-ах)	52	17	34,43333333
Случаи без изменения(-й) в исследуемом(-ых) гене(-ах)	462	67	NA

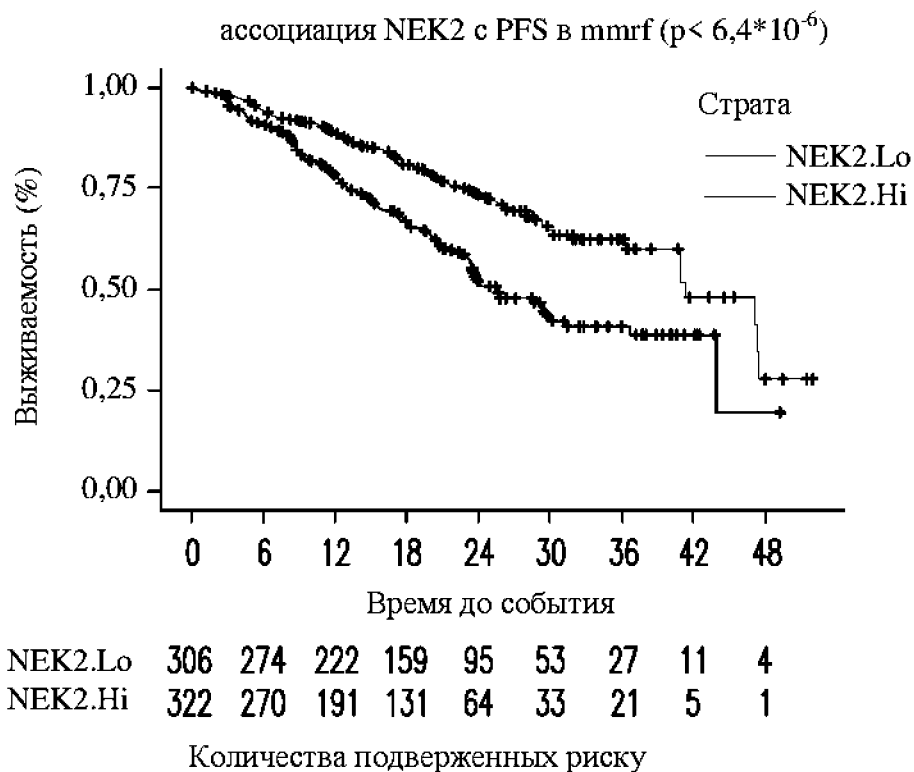
Фигура 14В



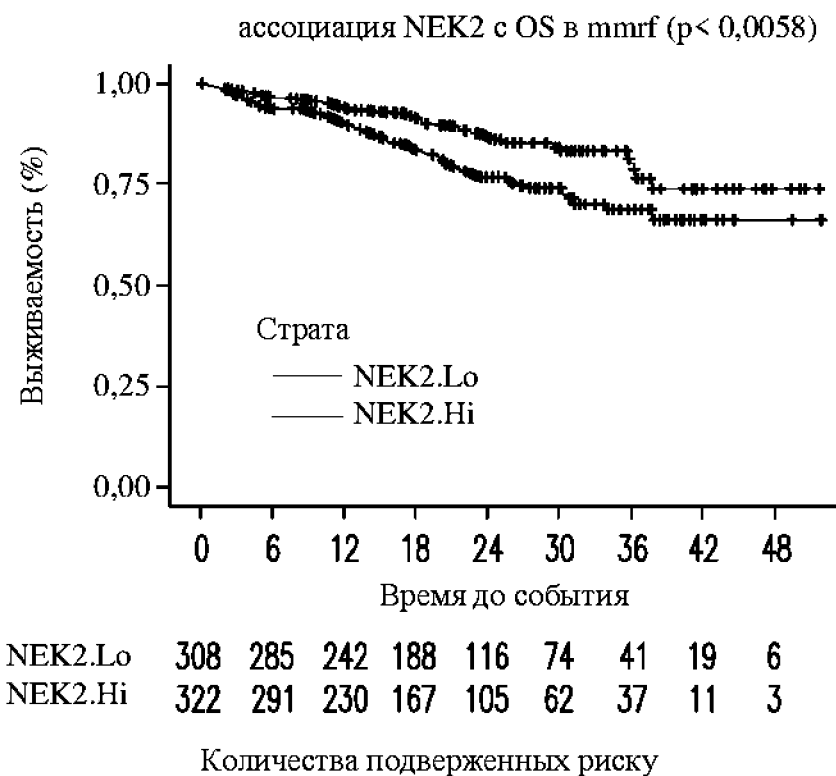
Фигура 14С



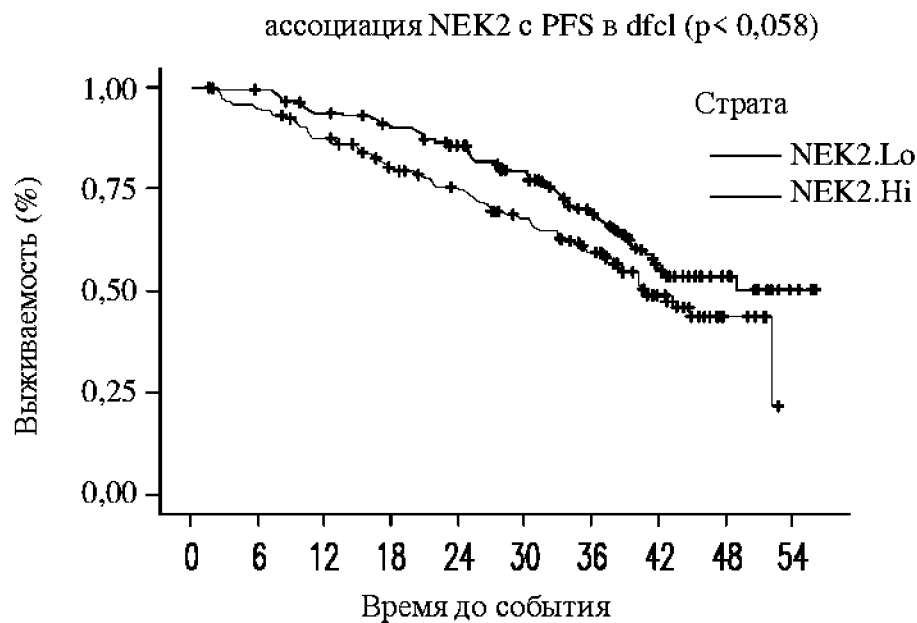
Фигура 14D



Фигура 15А



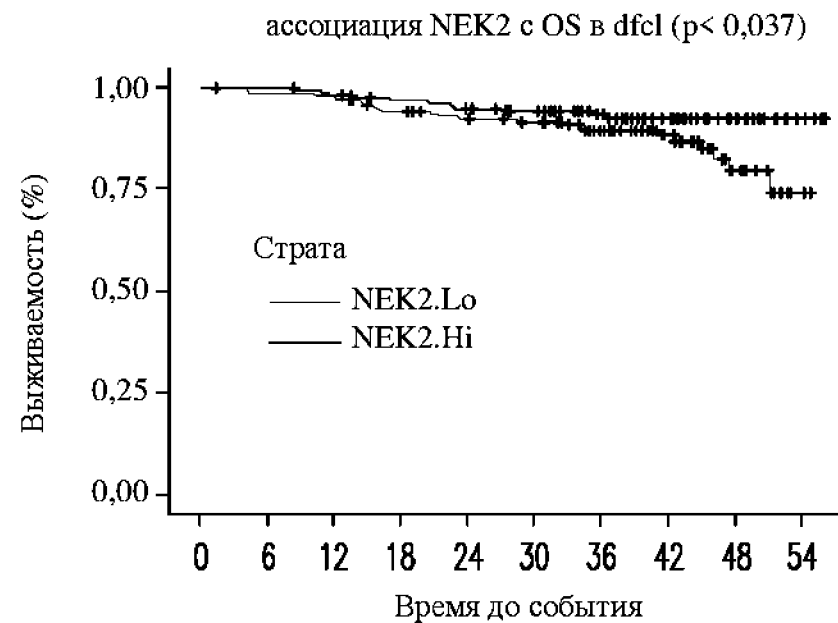
Фигура 15В



NEK2.Lo	144	137	124	108	97	82	67	38	8	0
NEK2.Hi	150	145	134	123	113	98	73	38	19	6

Количества подверженных риску

Фигура 15C

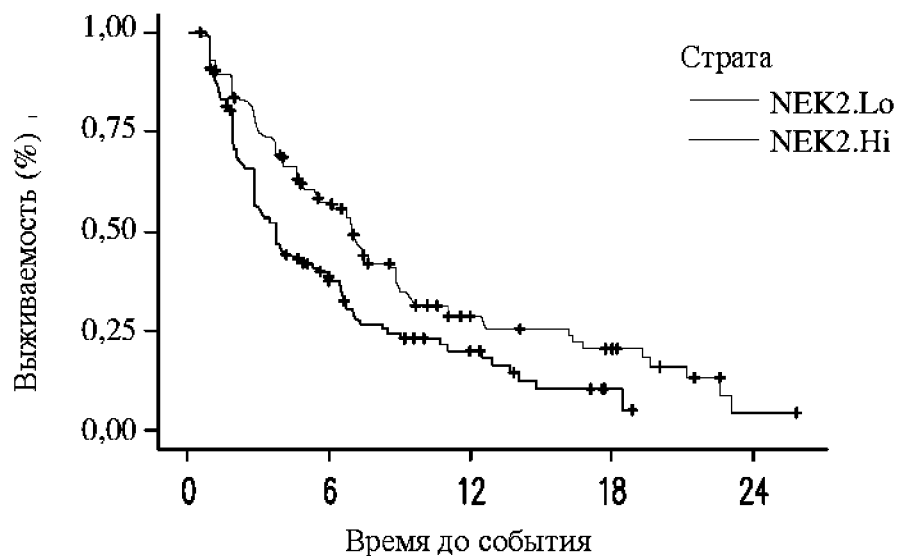


NEK2.Lo	155	153	152	144	138	132	114	71	24	2
NEK2.Hi	155	154	150	145	141	133	111	75	40	9

Количества подверженных риску

Фигура 15D

ассоциация NEK2 с PFS в mm010 ($p < 0,0027$)

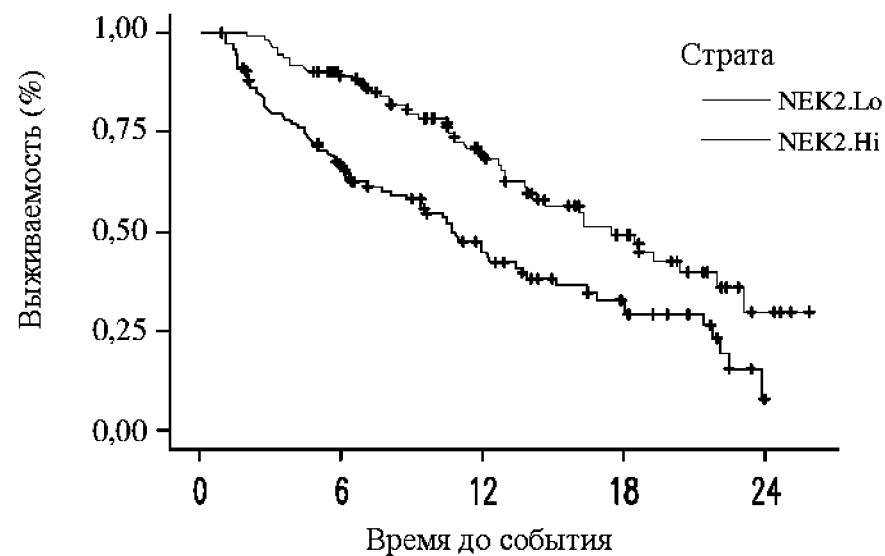


NEK2.Lo	111	57	19	11	1
NEK2.Hi	110	34	13	2	0

Количества подверженных риску

Фигура 15E

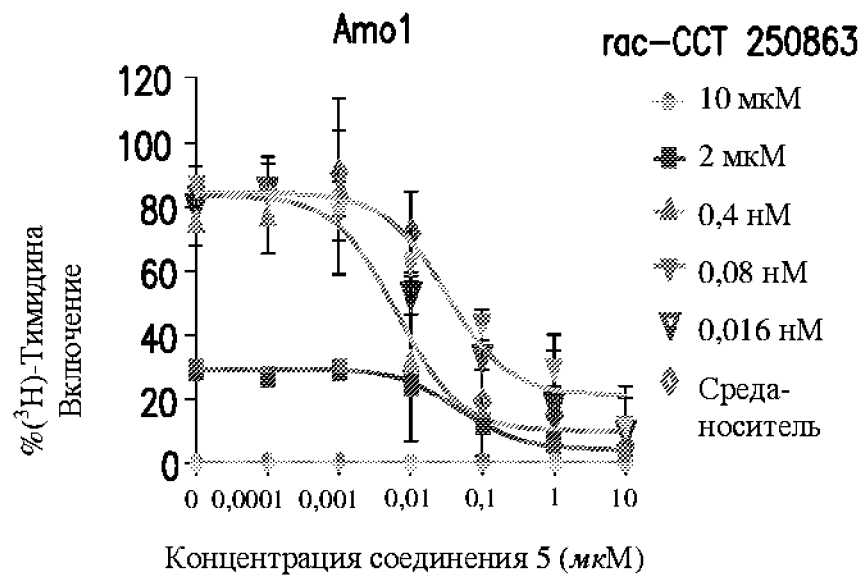
ассоциация NEK2 с OS в mm010 ($p < 0,00033$)



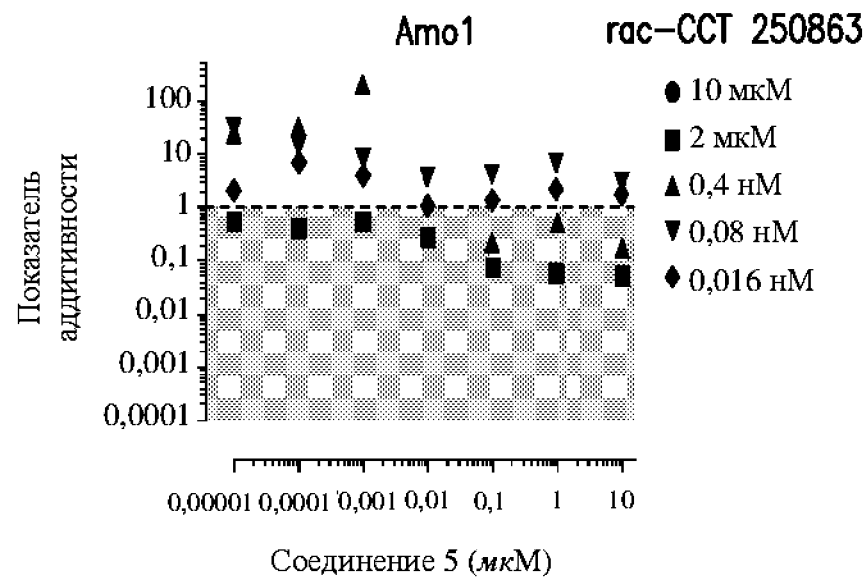
NEK2.Lo	111	89	51	26	4
NEK2.Hi	110	68	36	17	1

Количества подверженных риску

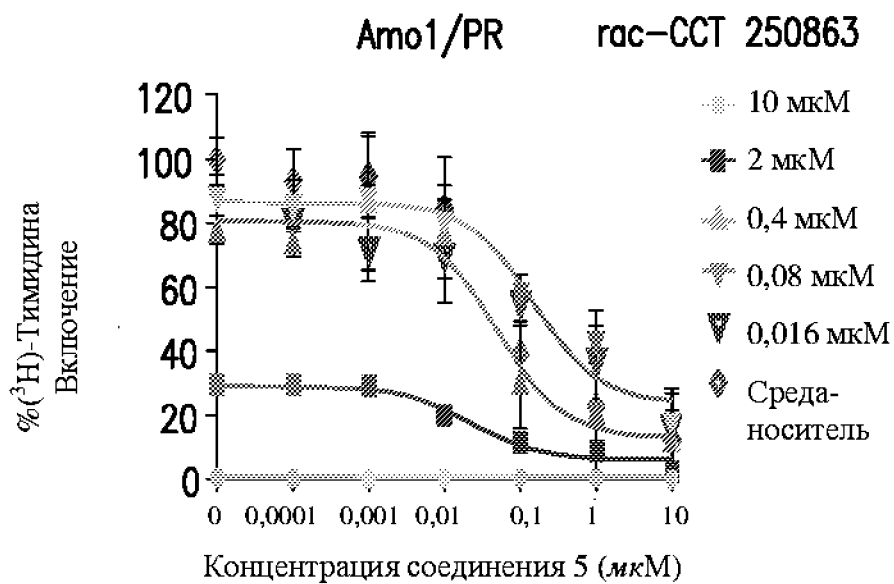
Фигура 15F



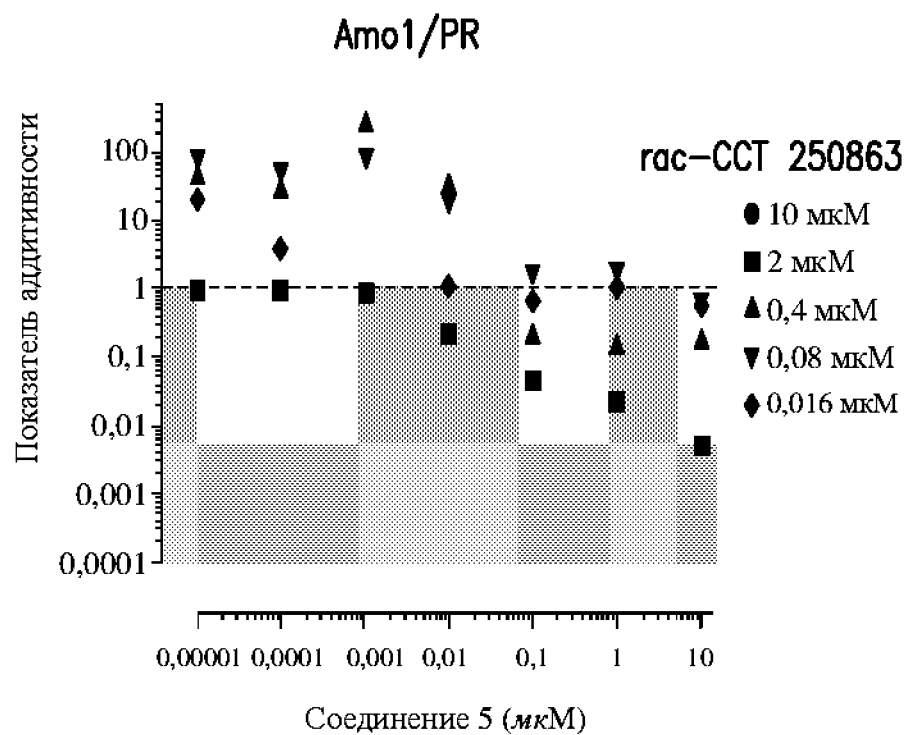
Фигура 16А



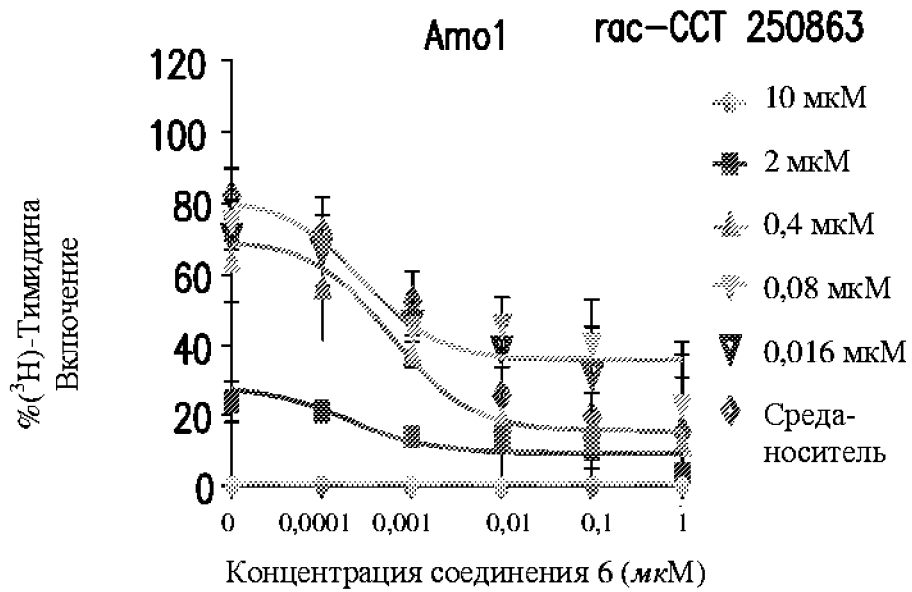
Фигура 16В



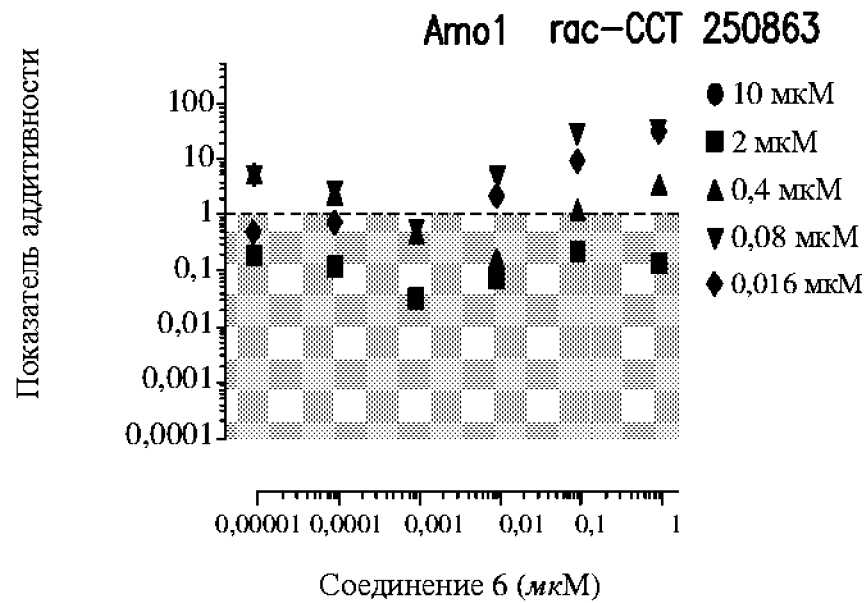
Фигура 16C



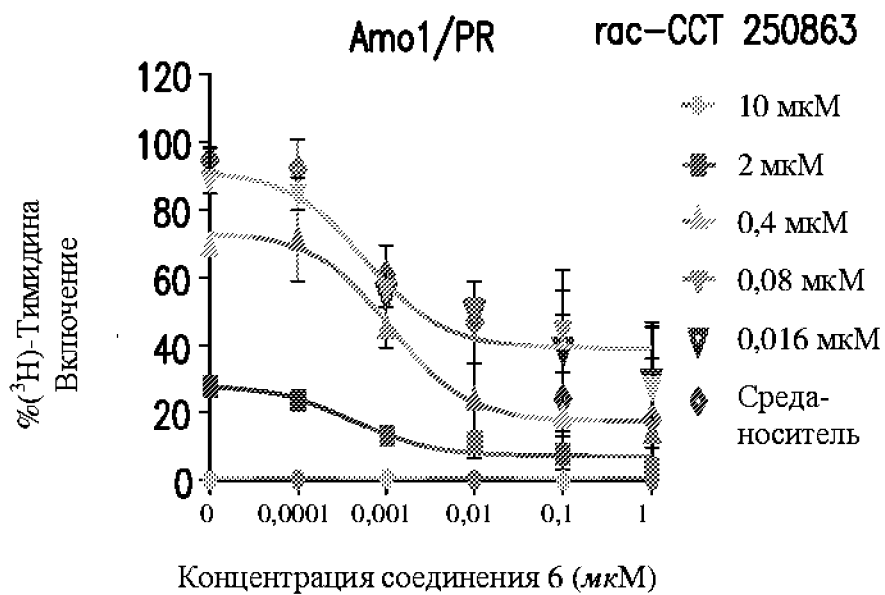
Фигура 16D



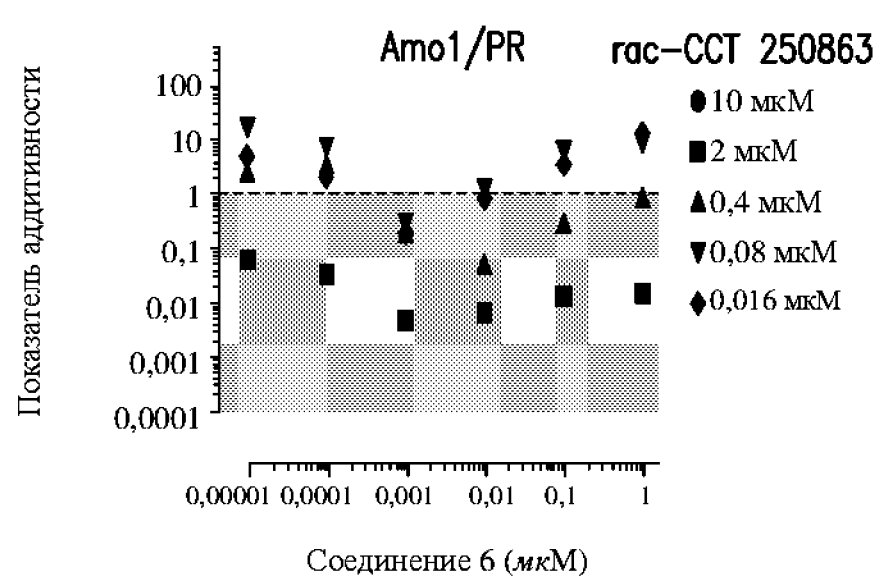
Фигура 16E



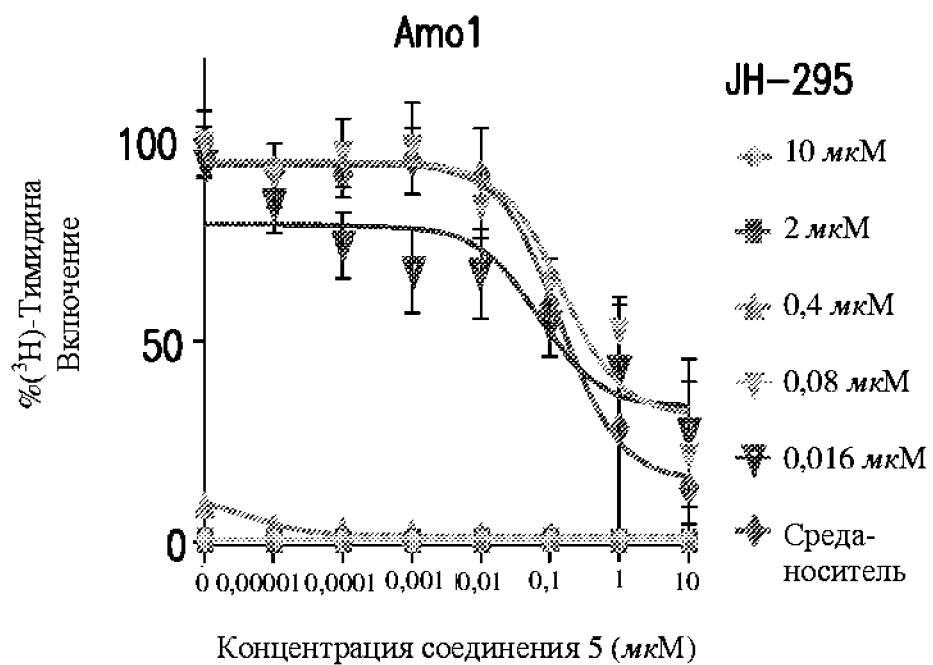
Фигура 16F



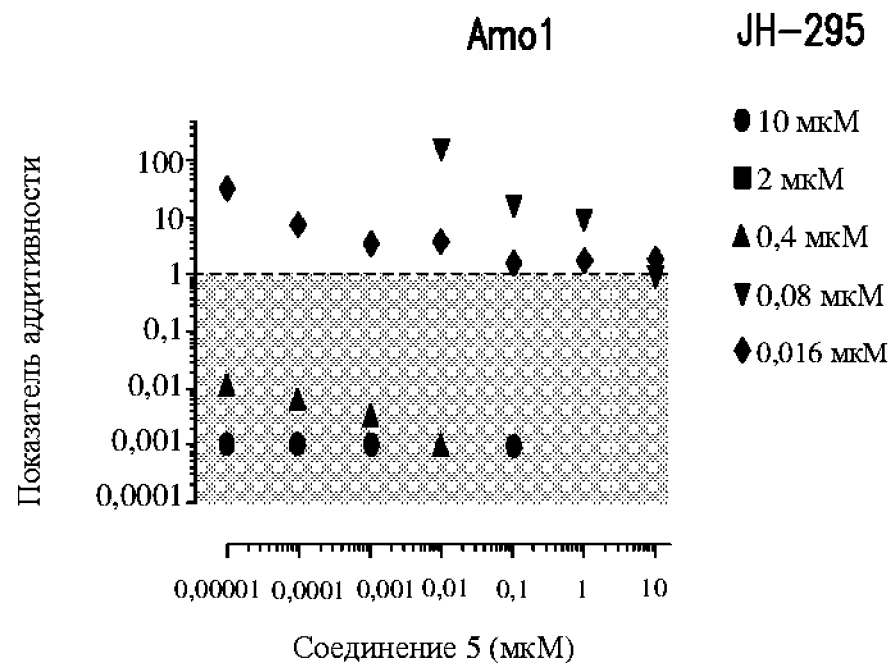
Фигура 16G



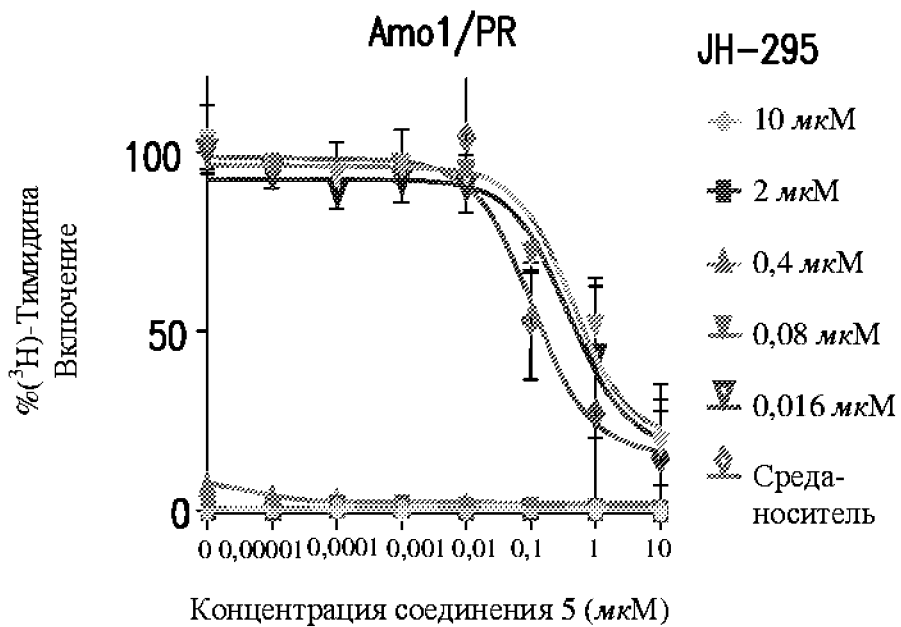
Фигура 16H



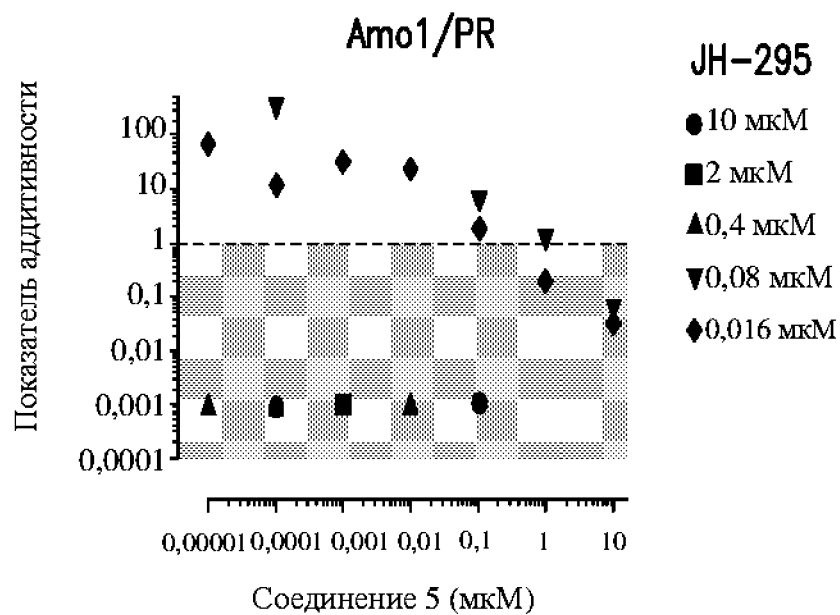
Фигура 16I



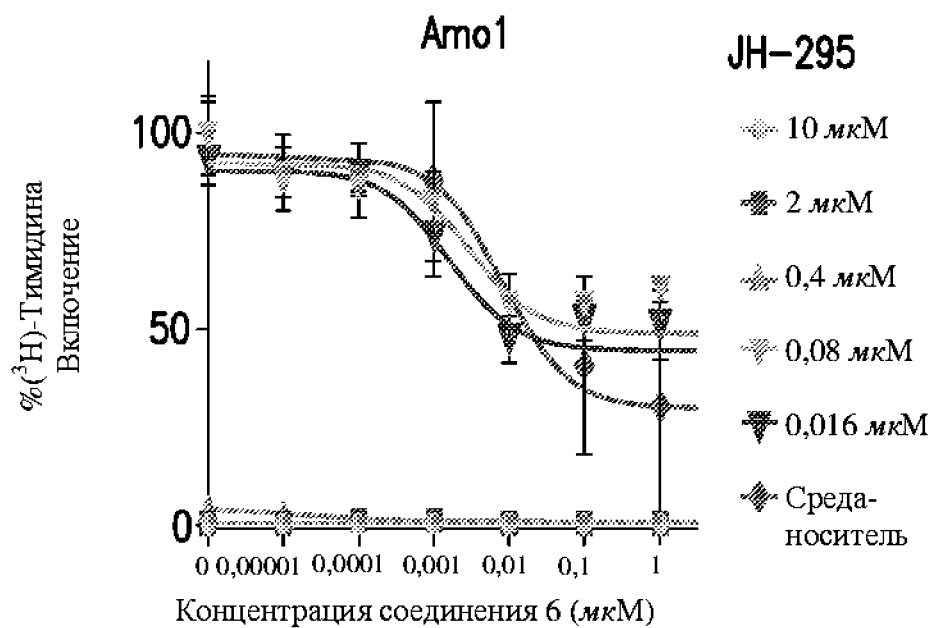
Фигура 16J



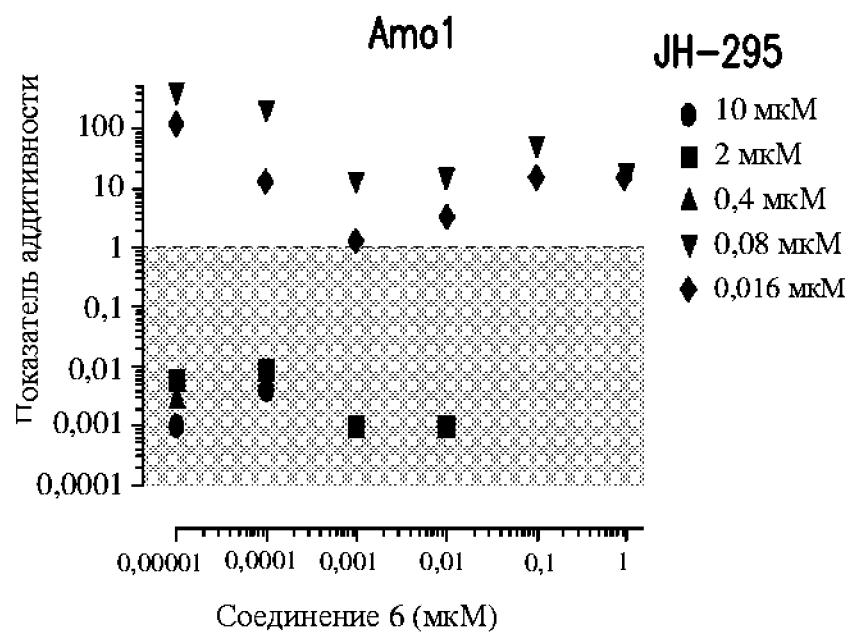
Фигура 16К



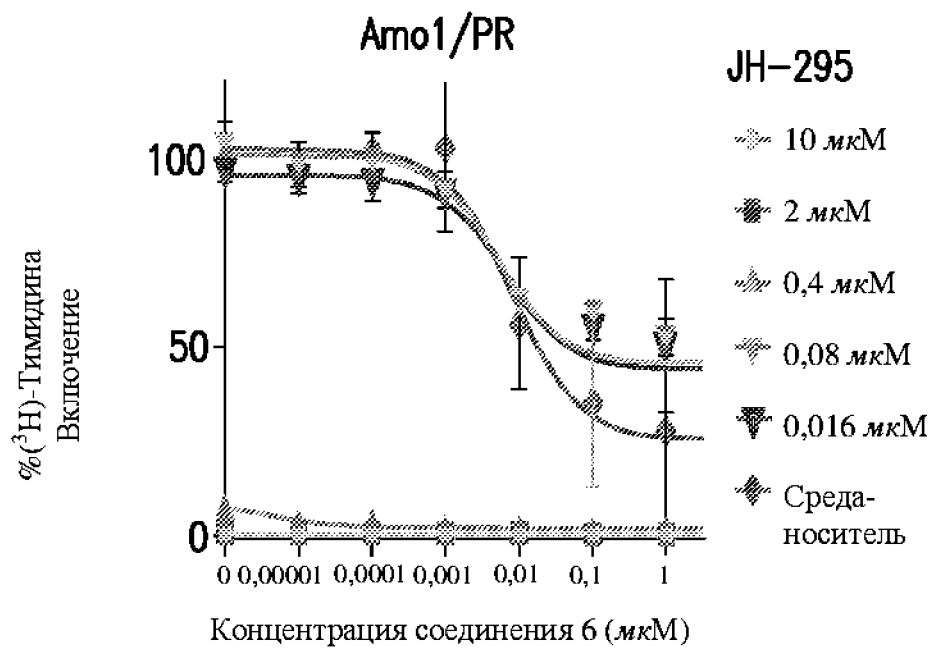
Фигура 16L



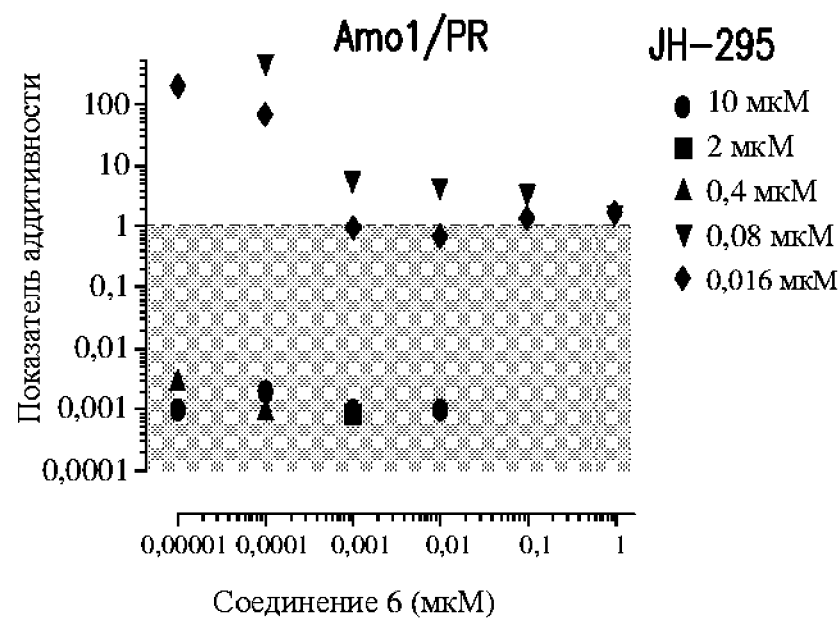
Фигура 16М



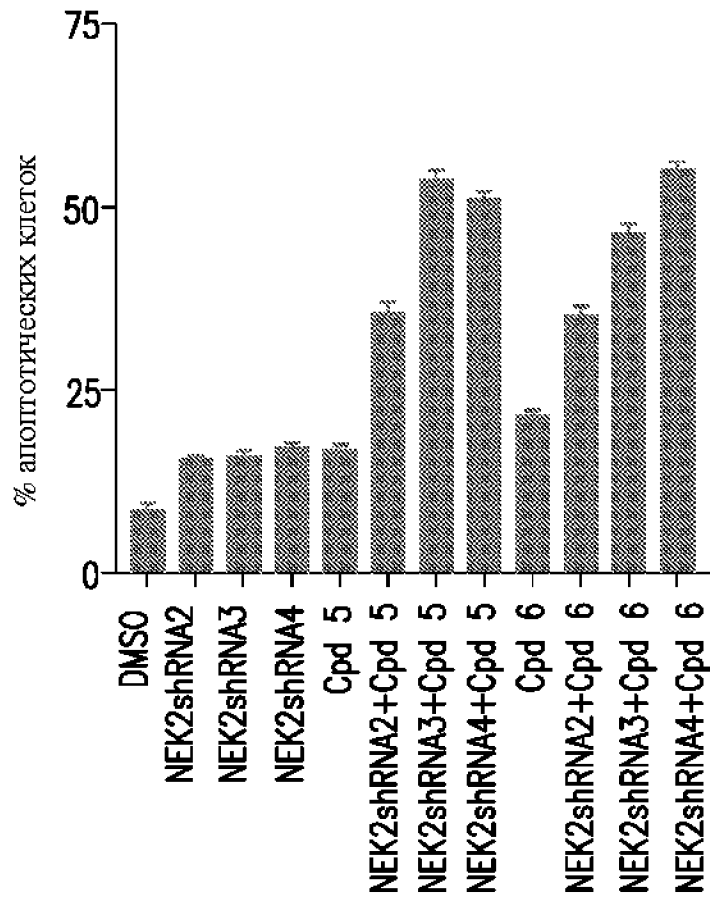
Фигура 16N



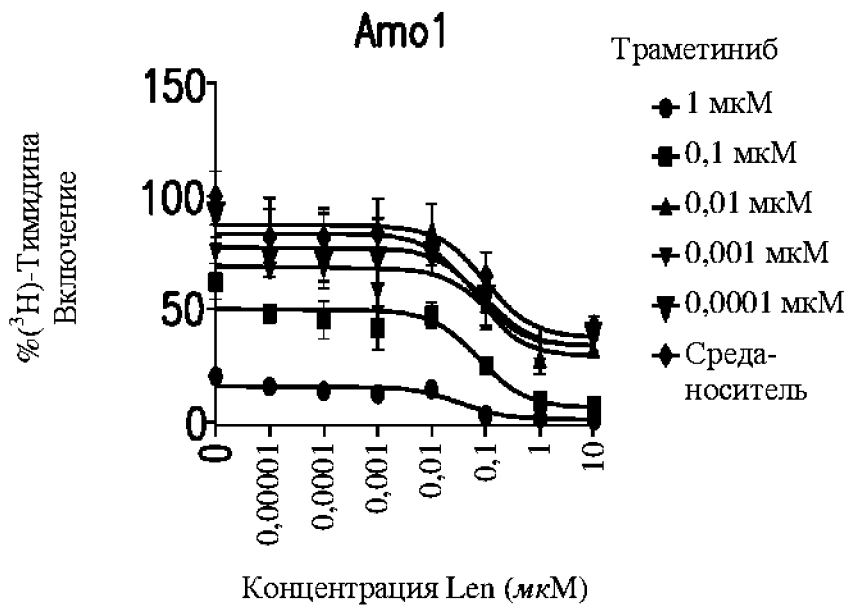
Фигура 16O



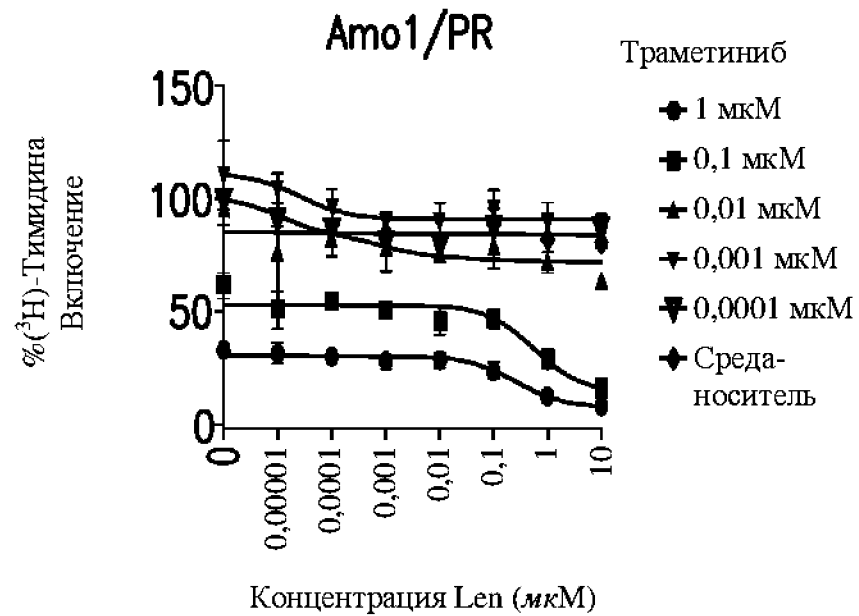
Фигура 16P



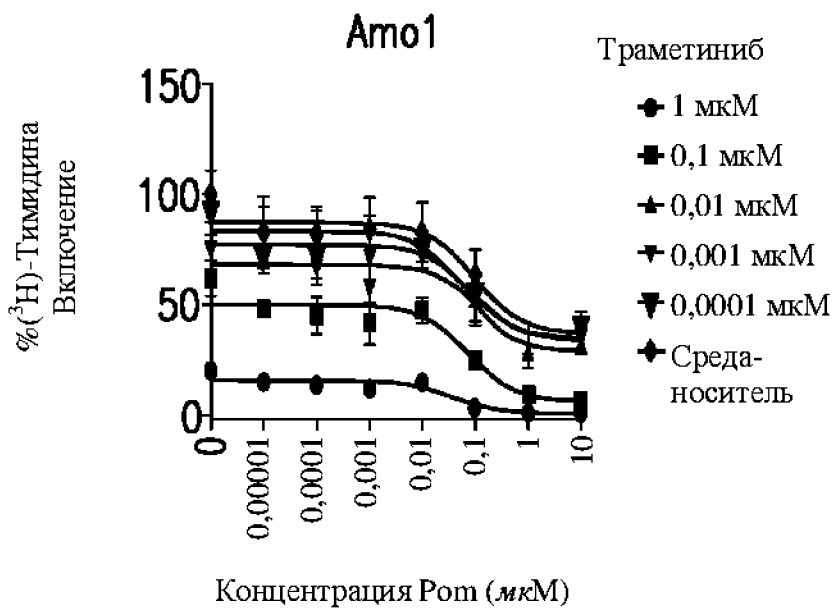
Фигура 17



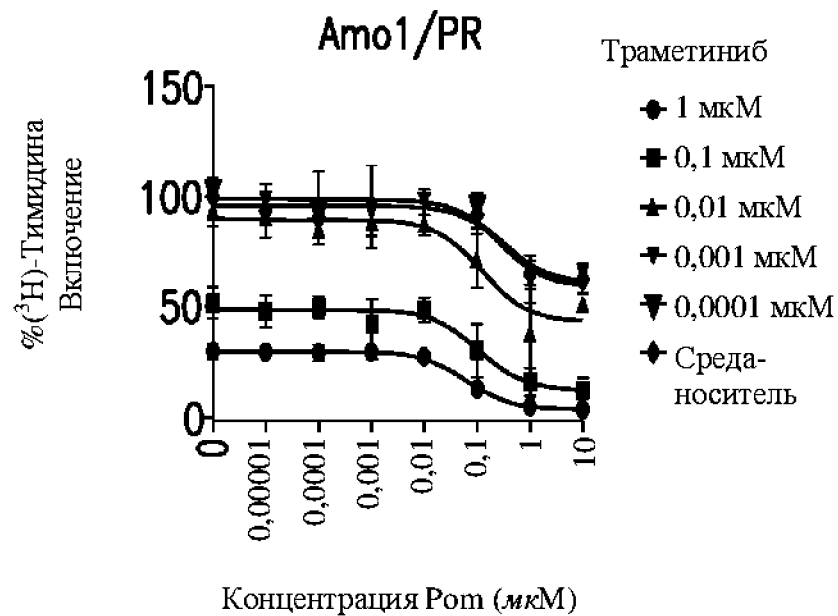
Фигура 18А



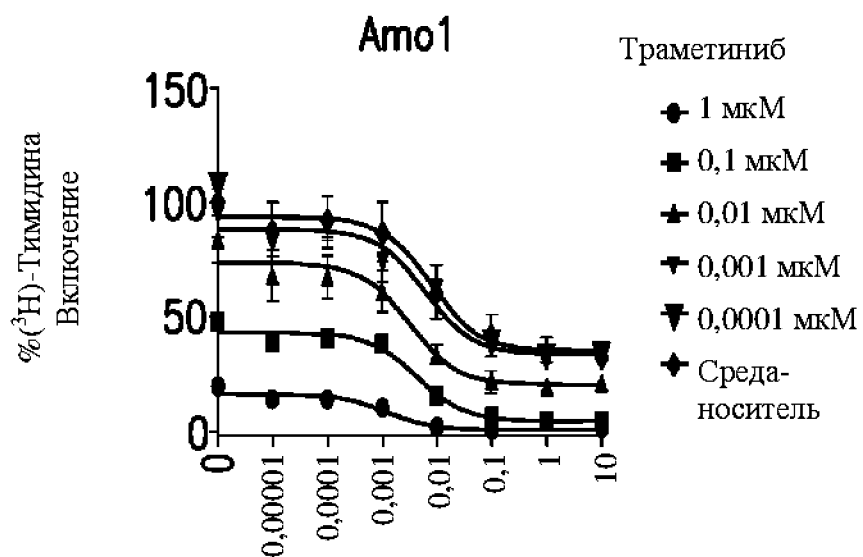
Фигура 18В



Фигура 18С

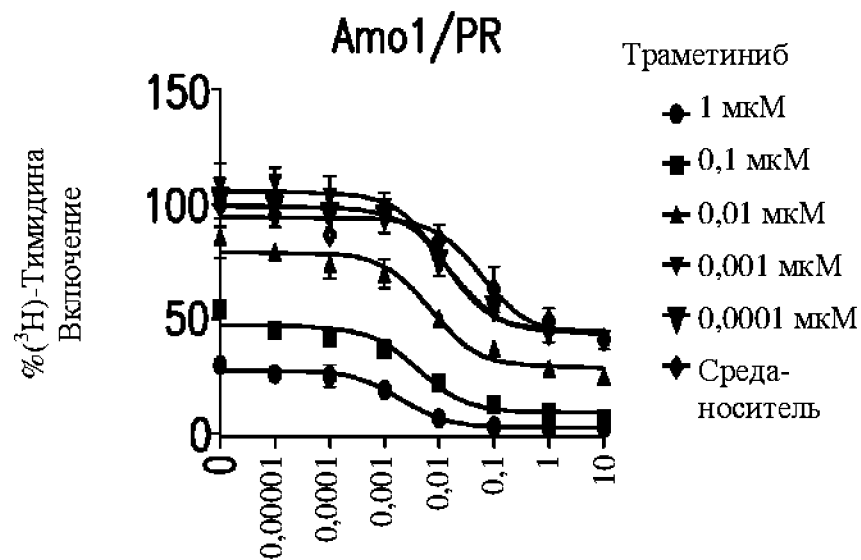


Фигура 18D



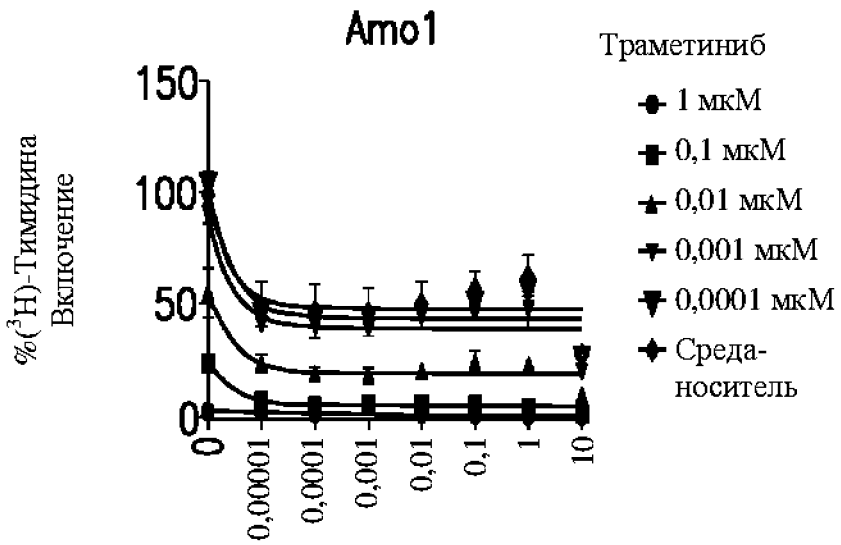
Концентрация соединения 5 (мкМ)

Фигура 18E



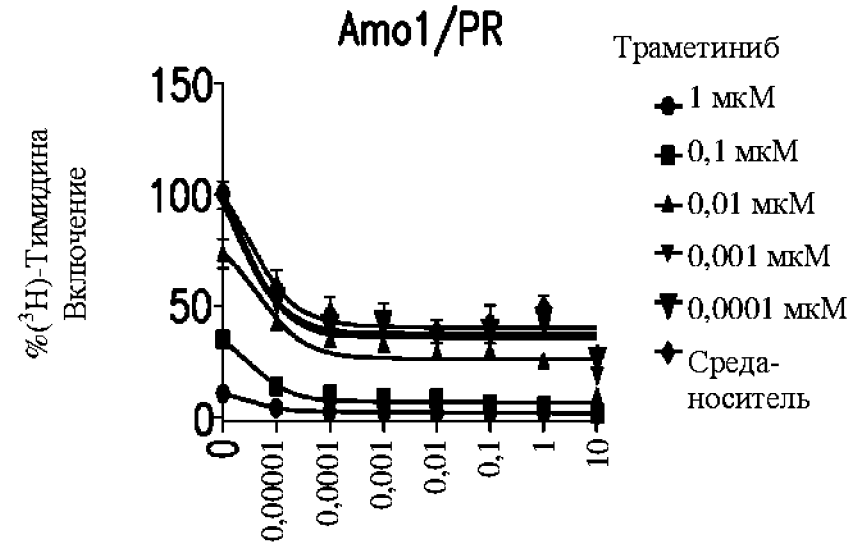
Концентрация соединения 5 (мкМ)

Фигура 18F



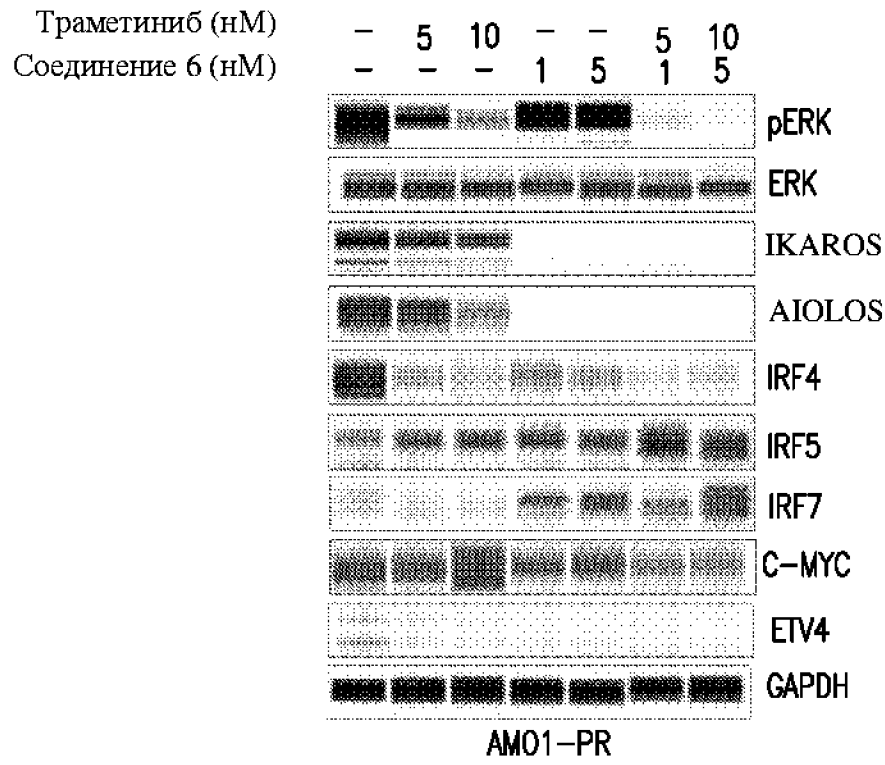
Концентрация соединения 6 (мкМ)

Фигура 18G

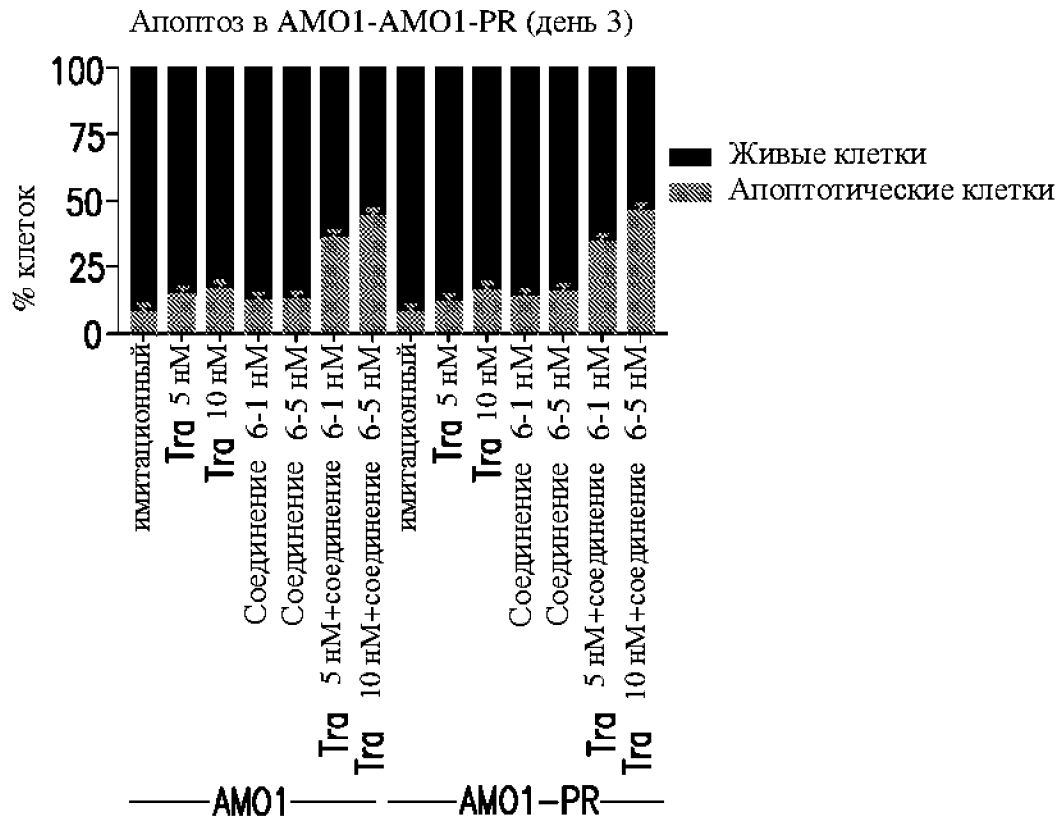


Концентрация соединения 6 (мкМ)

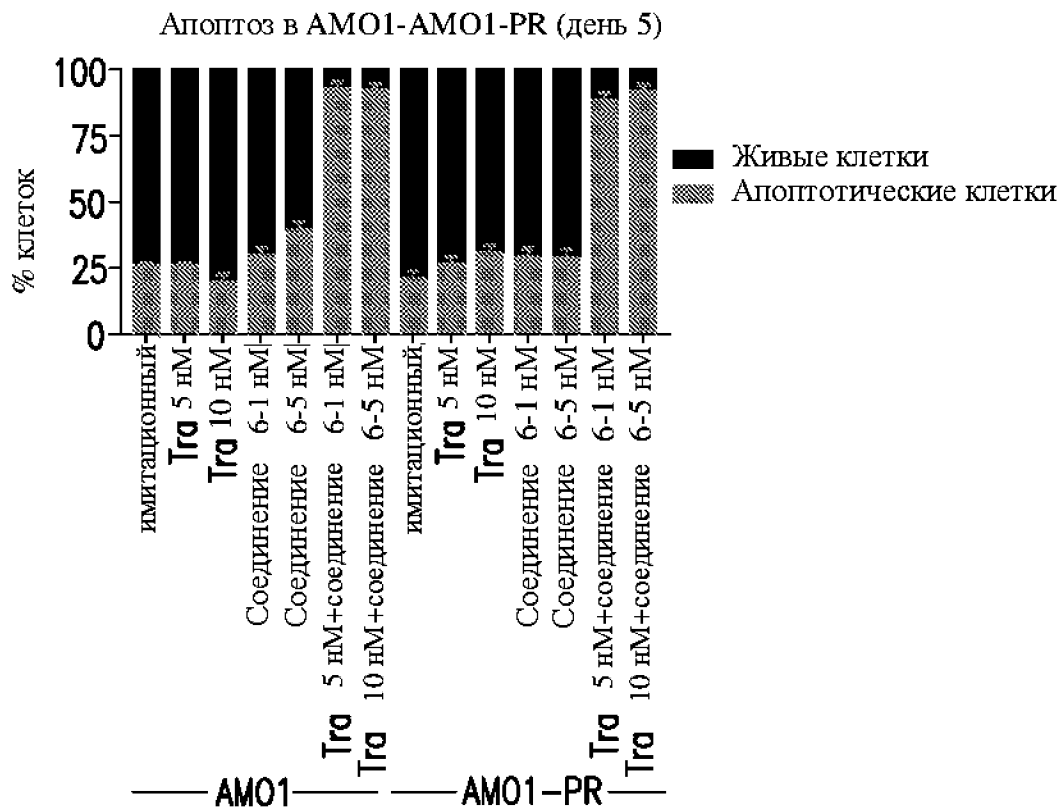
Фигура 18H



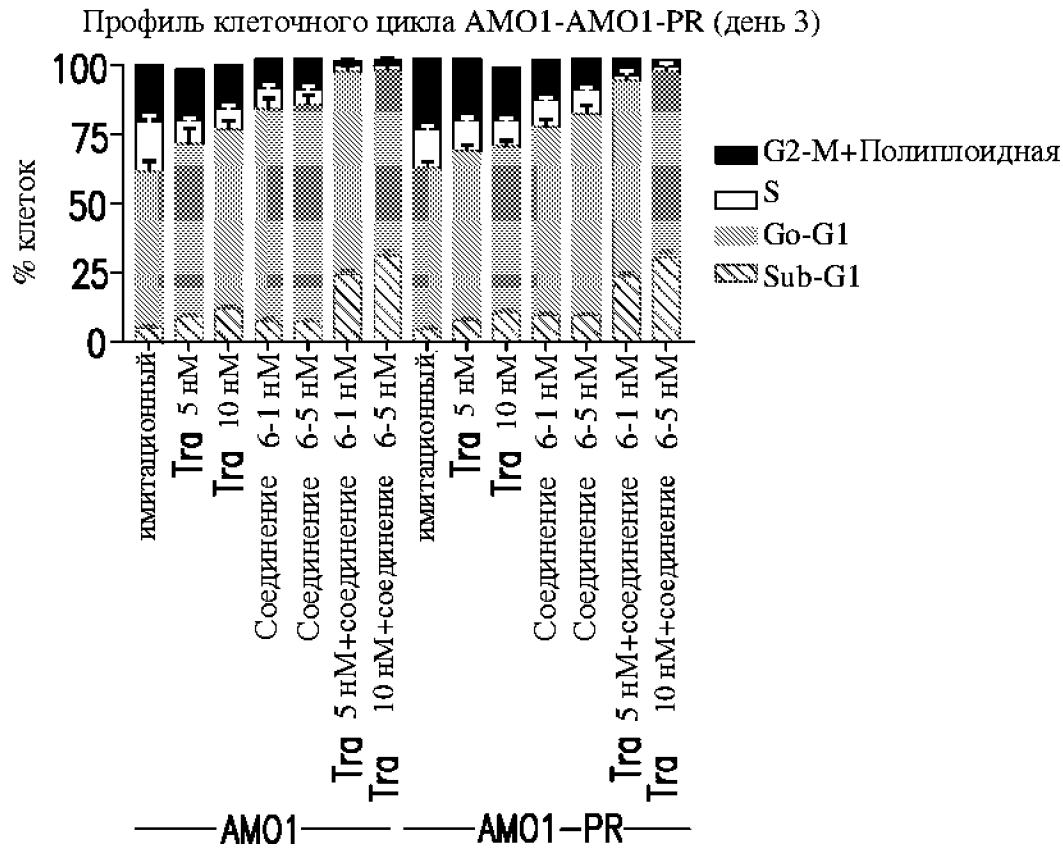
Фигура 19



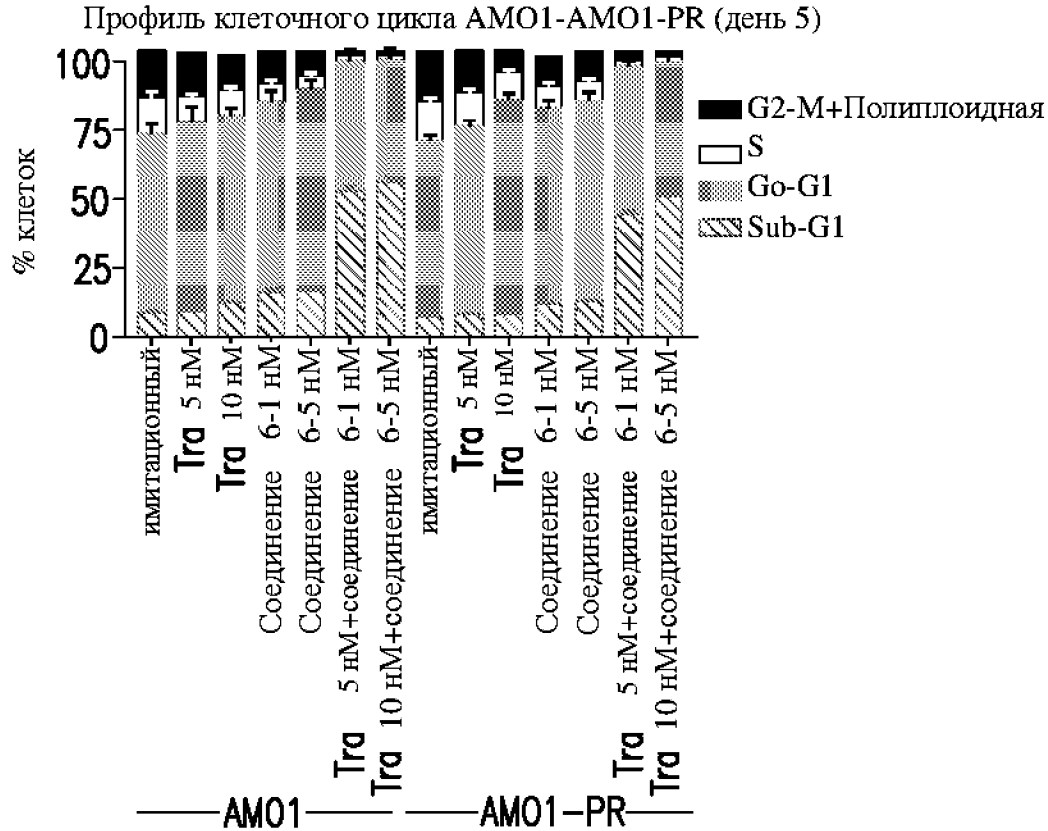
Фигура 20А



Фигура 20В

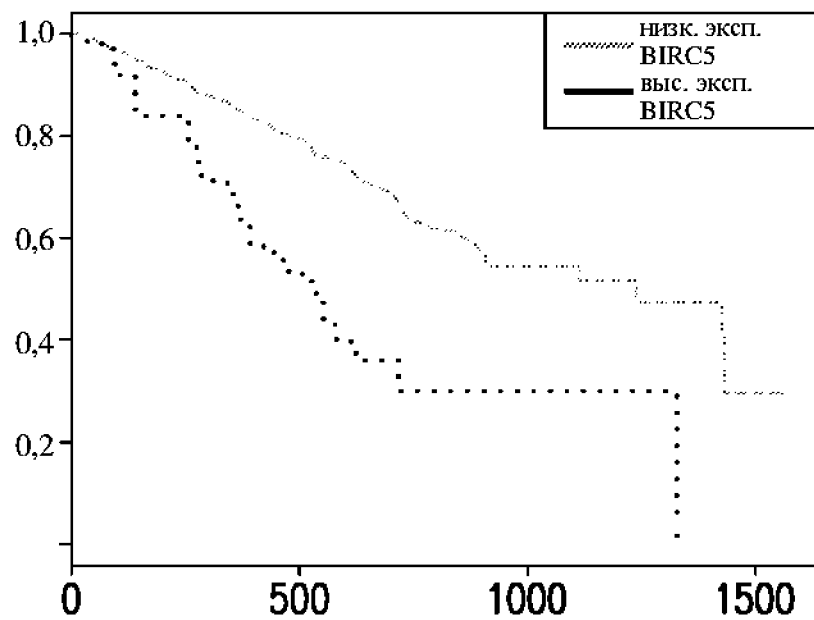


Фигура 21А



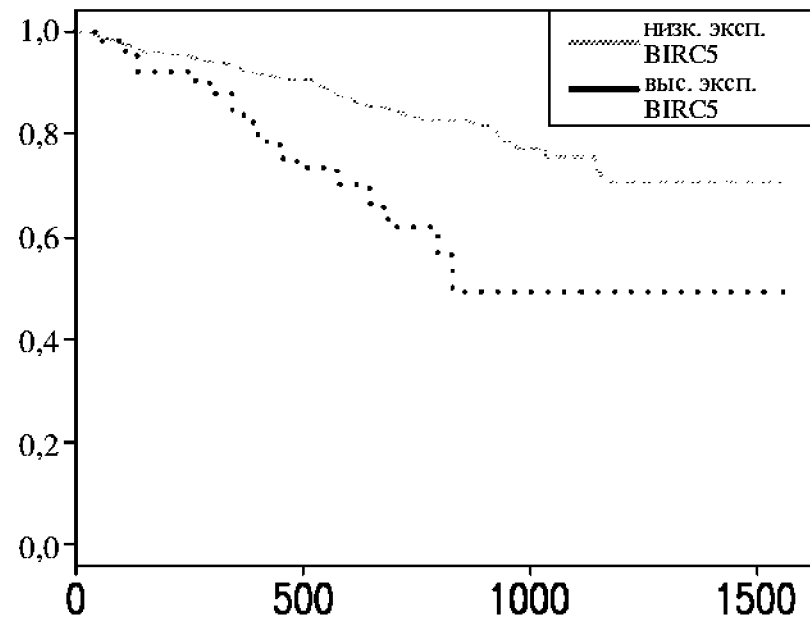
Фигура 21В

PFS

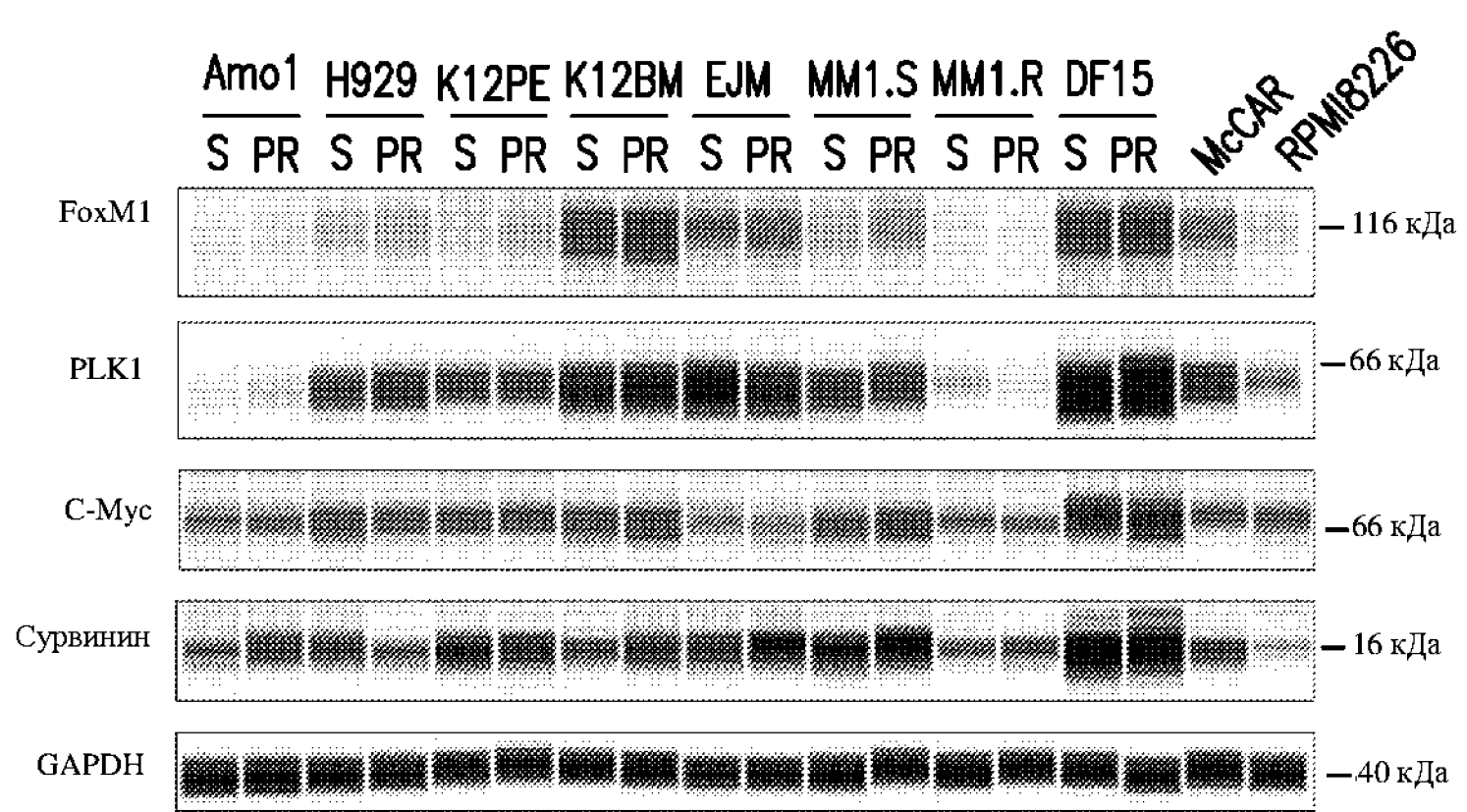


Фигура 22А

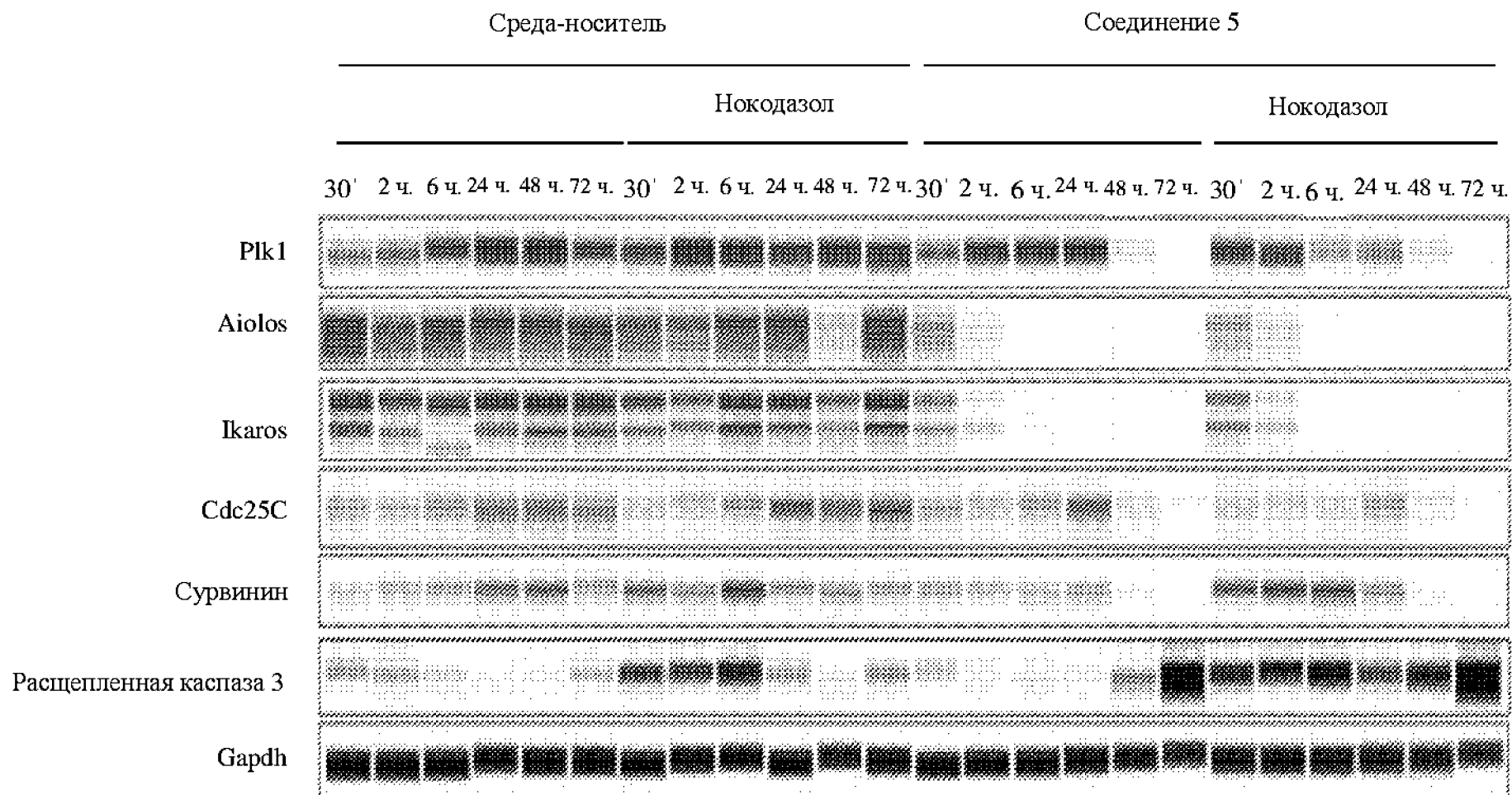
OS



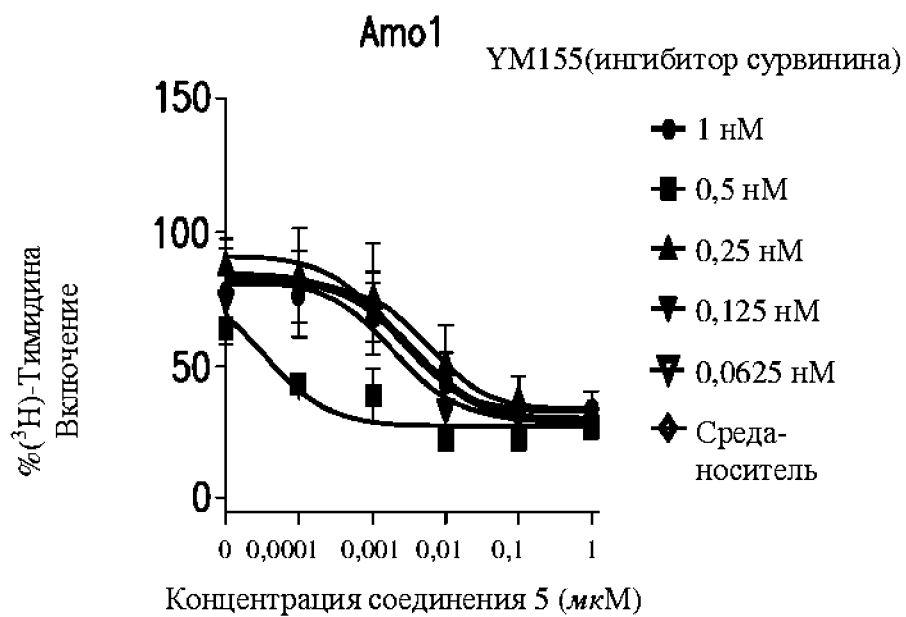
Фигура 22В



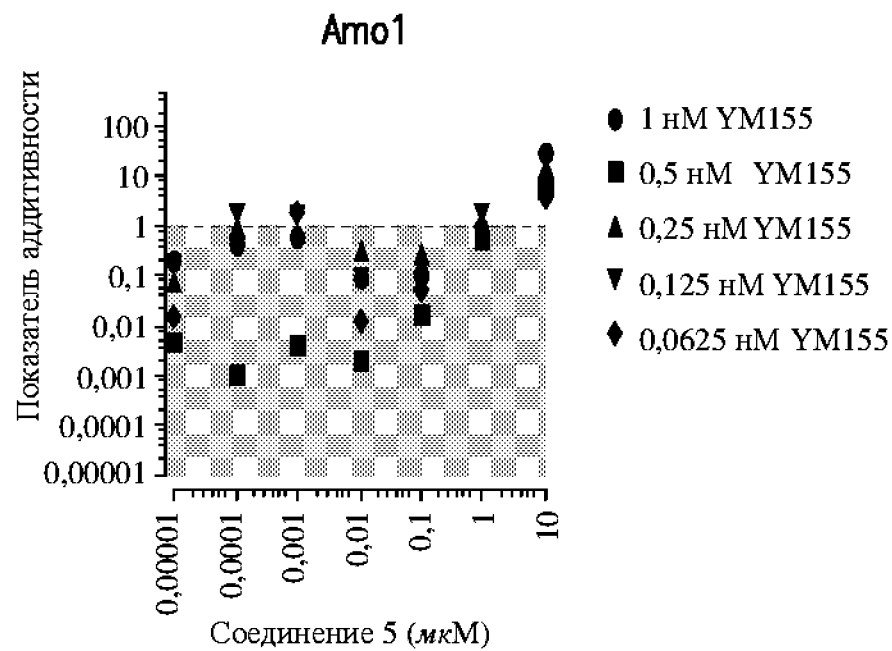
Фигура 23А



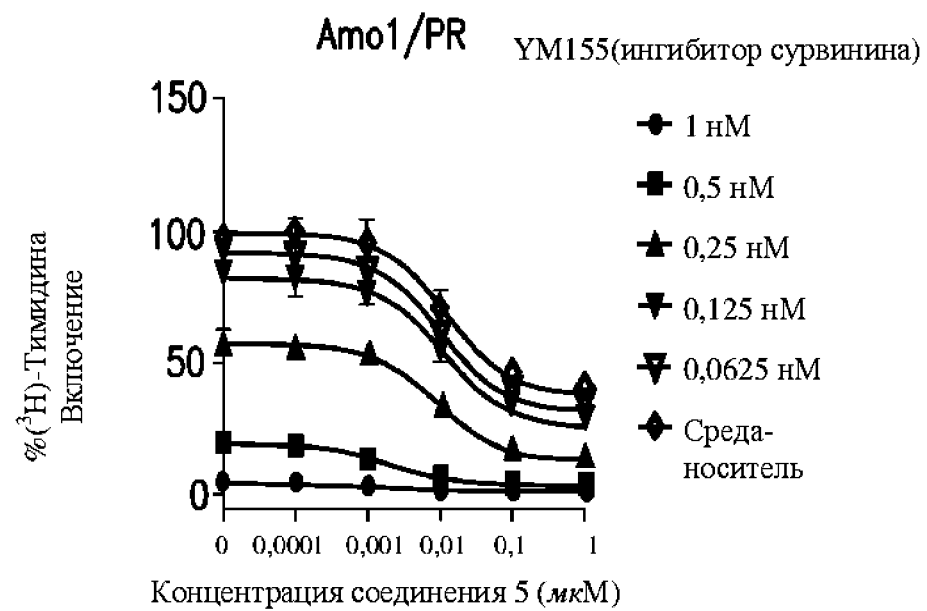
Фигура 23В



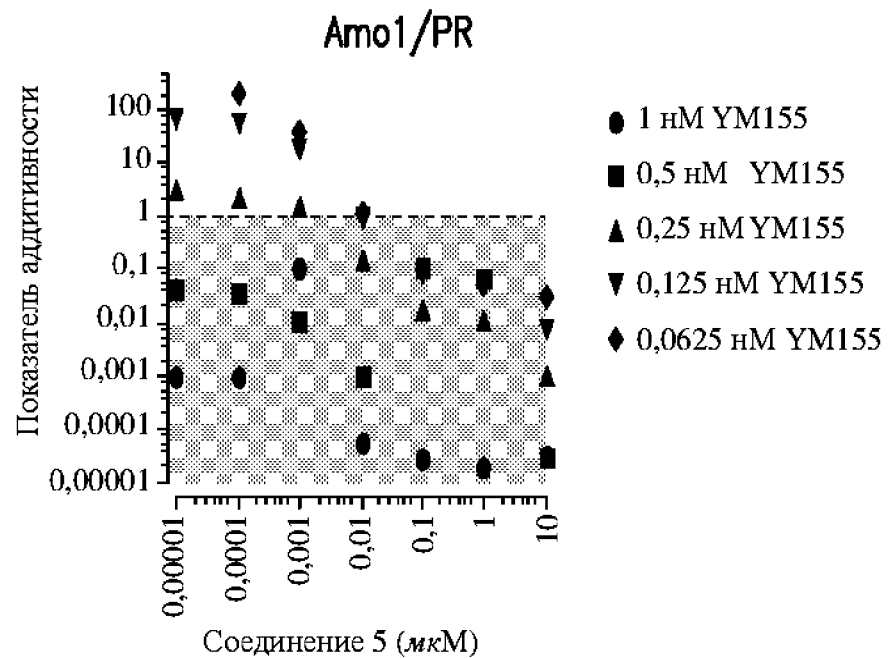
Фигура 24А



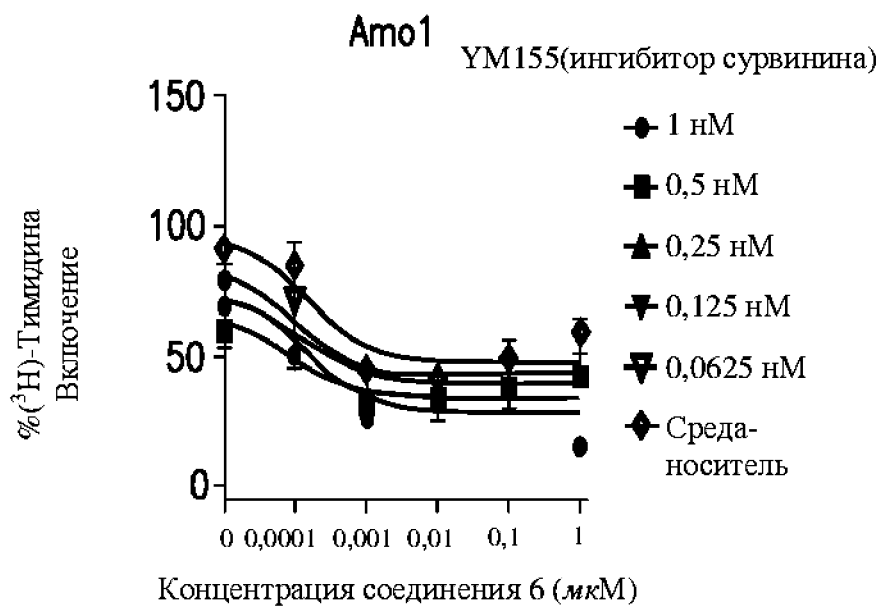
Фигура 24В



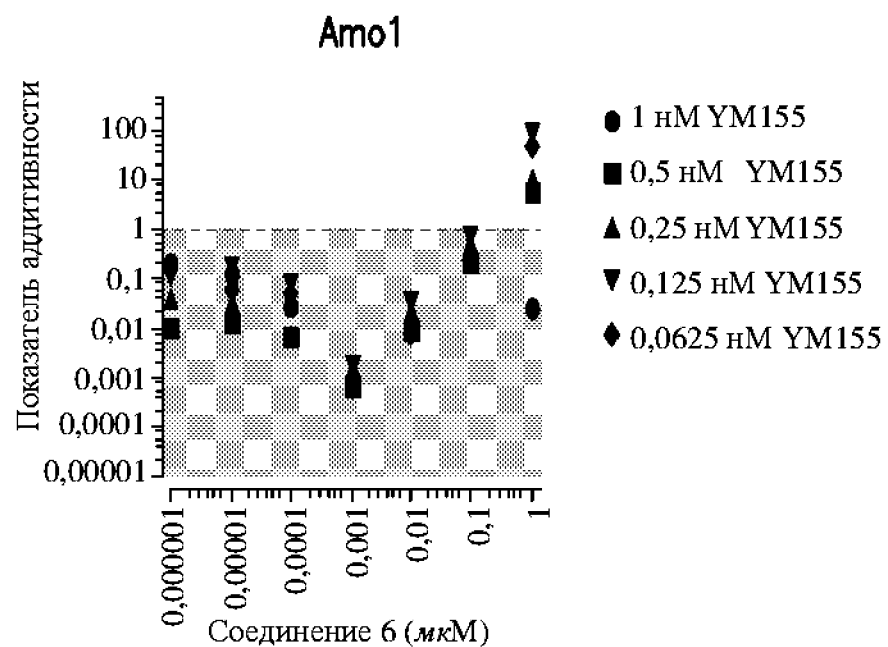
Фигура 24С



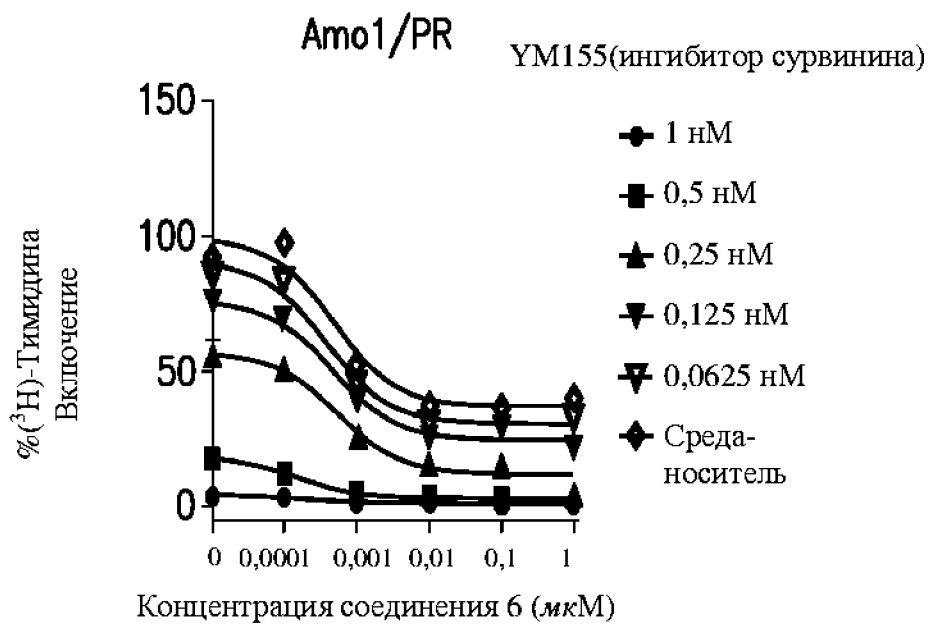
Фигура 24D



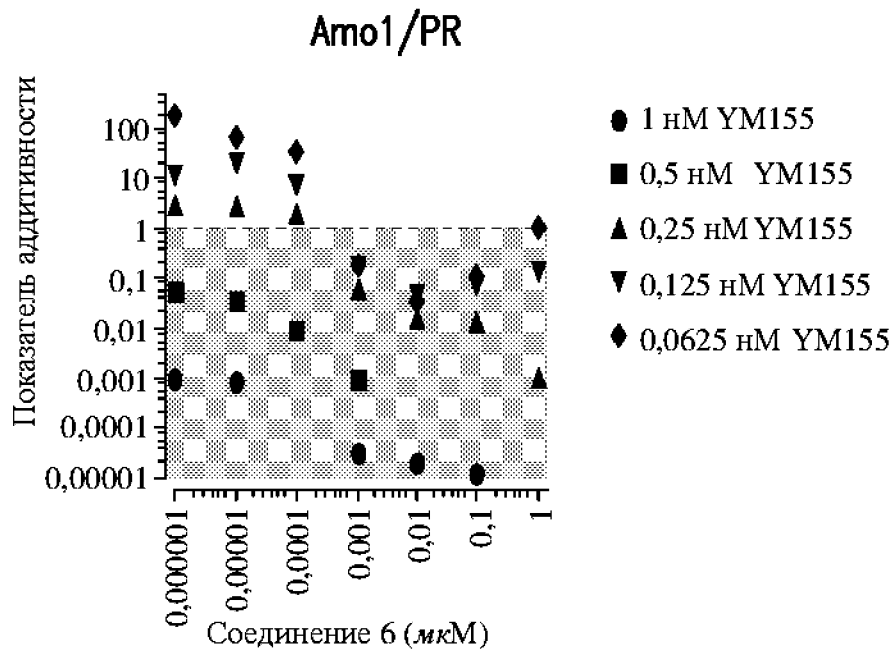
Фигура 24Е



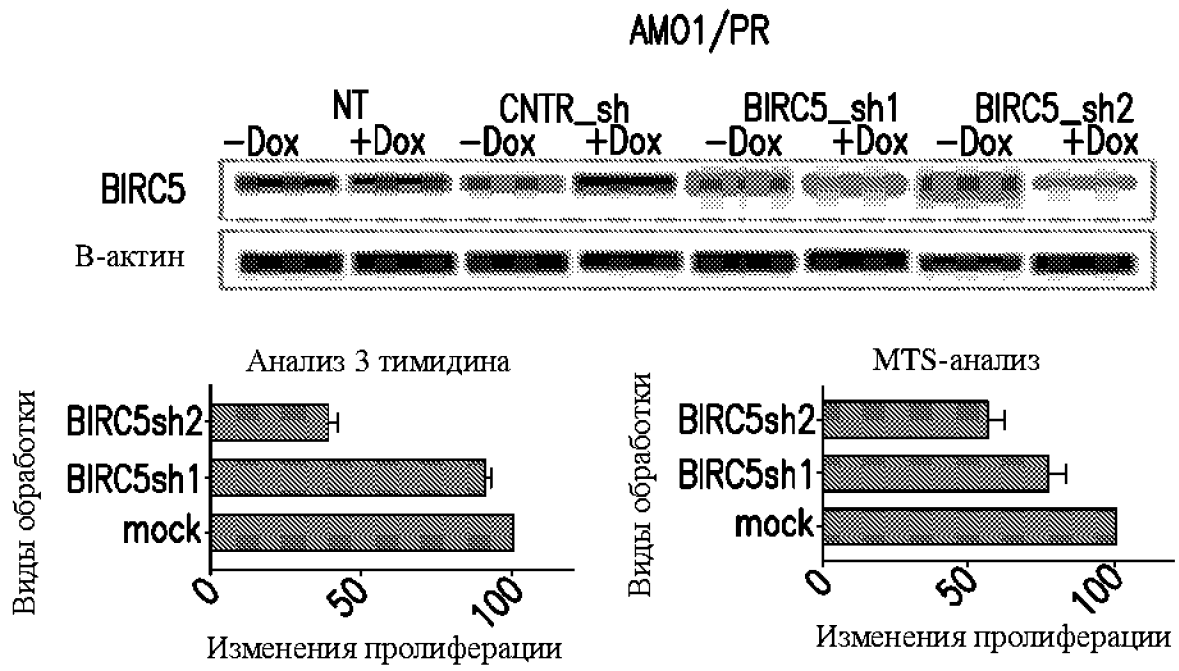
Фигура 24F



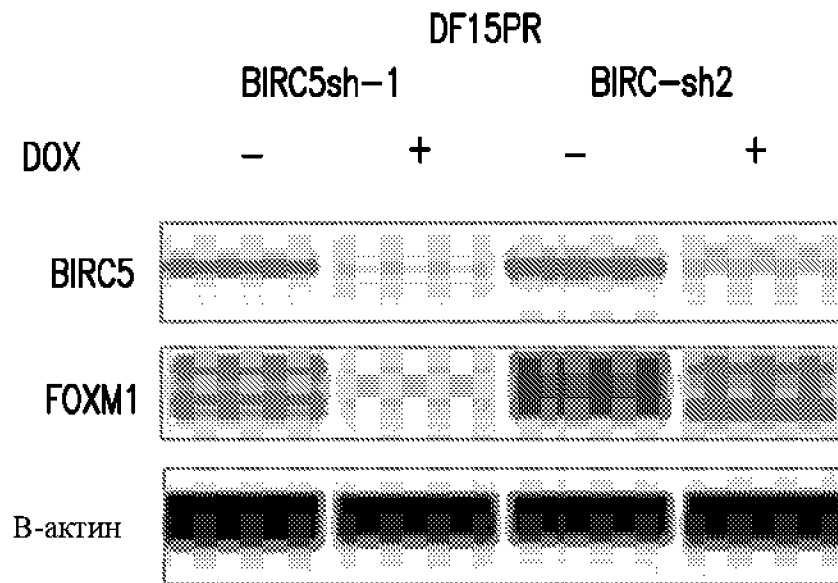
Фигура 24G



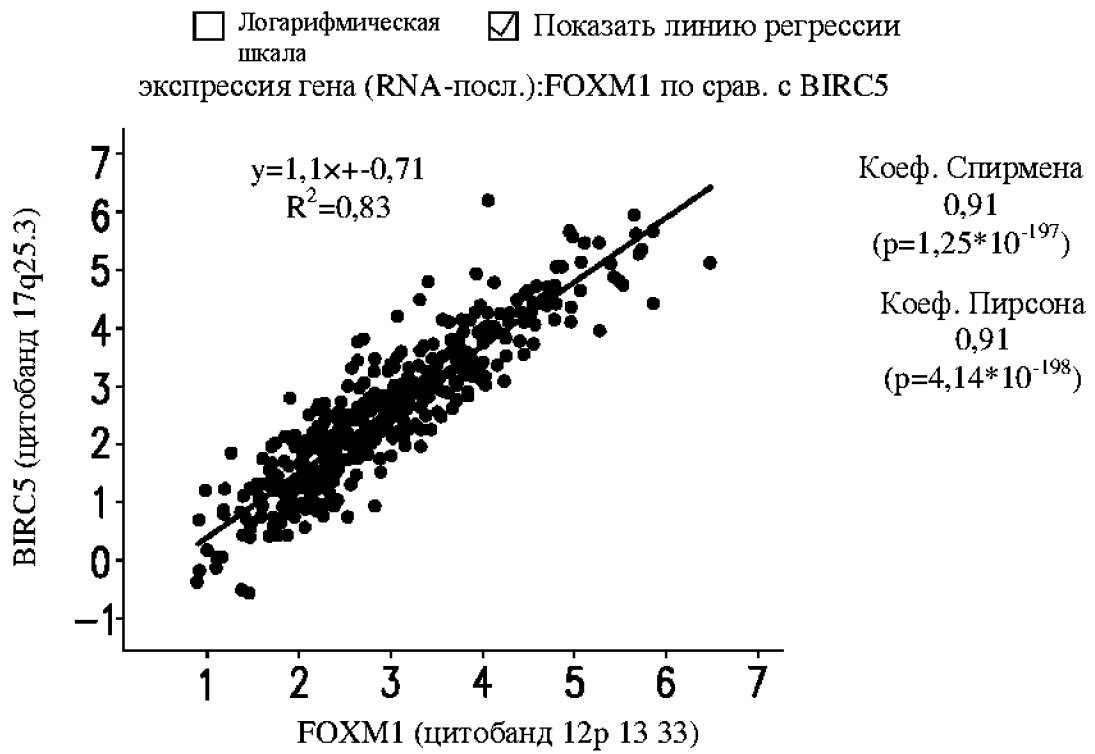
Фигура 24H



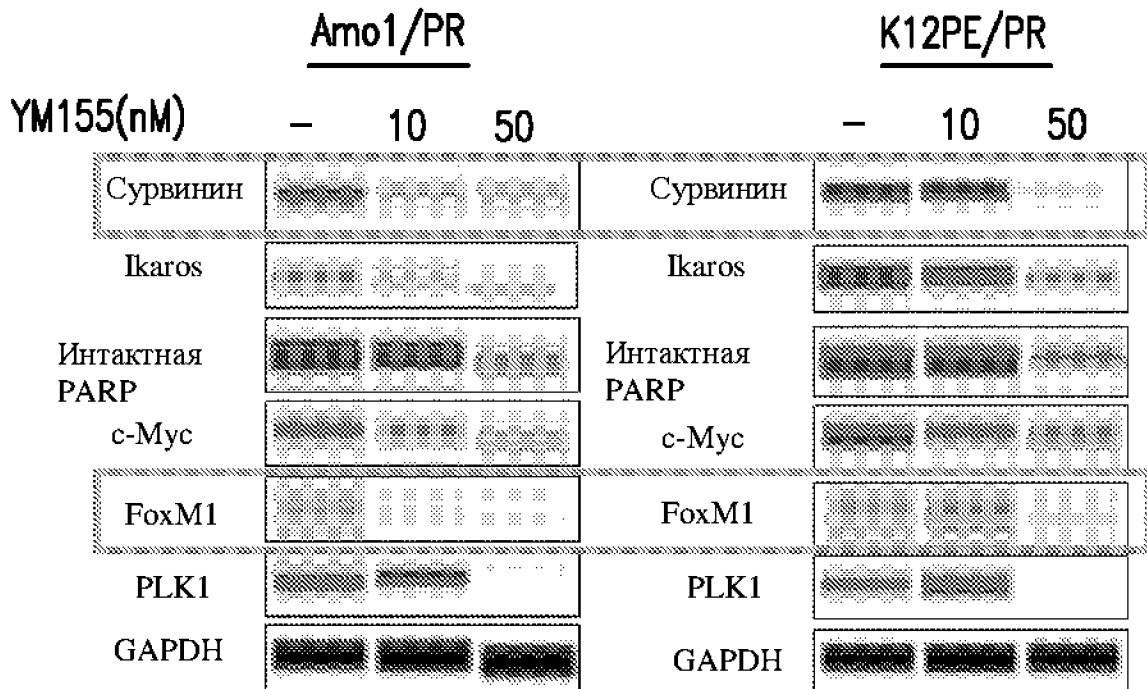
Фигура 25А



Фигура 25В



Фигура 26А



Фигура 26В